ORSAY
Série A
N° d'Ordre
1165

Inscrit aux archives originales du
Centre de documentation du
CNRS sous le N°
A. O. 8791

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD

CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Geneviève KOZAK-REISS
Docteur en médecine

Le couplage excitation-contraction chez les muscles squelettiques du Rat. Étude mécanique et électrophysiologique de quelques agents renforçateurs.

SOUTENUE LE 2 JUILLET 1973, DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

M. BENOIT : PRÉSIDENT

M. CORABŒUF
M. MARECHAL } EXAMINATEURS
M. BOUISSET

ORSAY
Série A
N° d'Ordre
1165

Inscrit aux archives originales du
Centre de documentation du
CNRS sous le N°
A. O. 8791

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ DE PARIS-SUD

CENTRE D'ORSAY

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Geneviève KOZAK-REISS
Docteur en médecine

Le couplage excitation-contraction chez les muscles squelettiques du Rat. Étude mécanique et électrophysiologique de quelques agents renforçateurs.

SOUTENUE LE 2 JUILLET 1973, DEVANT LA COMMISSION D'EXAMEN

M. BENOIT : PRÉSIDENT

M. CORABŒUF
M. MARECHAL
M. BOUISSET
} EXAMINATEURS

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

à mon mari,

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41542715_0016

J'exprime ici toute ma gratitude à Monsieur le Professeur BENOIT qui n'a pas craint d'accueillir dans son laboratoire un médecin, de le former aux disciplines scientifiques, de l'orienter dans un domaine dont la finalité est l'homme et de l'aider de ses conseils éclairés.

De même, je suis extrêmement reconnaissante au Professeur MARECHAL qui, après m'avoir invitée dans son laboratoire, m'a si aimablement reçue en mettant à ma disposition un appareillage dont je ne disposais pas à Orsay, me guidant de ses amicales critiques et enfin m'a fait l'honneur d'examiner ce travail.

J'exprime également ma gratitude au Professeur CORABOEUF qui me parraine au C.N.R.S. et au Professeur BOUISSET qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir participer à ce jury.

Je remercie également Jean PRZYBYSLAWSKI pour son amicale collaboration qui se poursuivra, je l'espère, au sein de l'équipe que nous formons et Jean MAMBRINI pour ses judicieux conseils.

Je tiens à remercier Madame LAUER dont l'excellente collaboration technique m'a été si précieuse tout au long de ces années de travail.

Ma gratitude va également à Madame SOURIOU, efficace, serviable, qui a mis en forme avec rapidité et compétence ce long mémoire dans des conditions difficiles,

A tout mon entourage familial, à mes amis, à mes collègues du Conseil Municipal de Guyancourt, dont l'amicale compréhension m'a permis de me décharger sur eux de soucis et de responsabilités, ces derniers mois

Enfin je remercie tous les membres de ce laboratoire avec lesquels j'ai travaillé en bonne entente.

TABLE DES MATIERES

CHAPITRE I - STRUCTURE DE LA FIBRE MUSCULAIRE p. 1

I - Les myofibrilles. p. 1

I-1. Le filament de myosine. p. 1

I-2. Le filament d'actine. p. 2

I-3. Schématisation de la formation des ponts. p. 2

II - Le réticulum sarcoplasmique et les tubules transverses. p. 2

II-1. Les tubules transversaux. p. 6

II-2. Le réticulum sarcoplasmique. p. 6

II-3. La triade. p. 8

III - La membrane sarcoplasmique. p. 8

IV- Les mitochondries. p. 9

V- Définition anatomique et histo-chimique des différents types de fibres squelettiques chez le Mammifère. p. 10

CHAPITRE II - DONNEES ACTUELLES SUR LE COUPLAGE EXCITATION-CONTRACTION. p. 12

I - Définition du couplage excitation-contraction. Moyens d'étude. p. 13

I-1. Définition du phénomène de renforcement de la secousse. p. 13

I-2. Le concept d'état actif. p. 13

I I-3. Phénomène de renforcement de la secousse et durée du potentiel d'action. p. 16

I-4. Renforcement de la tension et variation du seuil mécanique de dépolarisation. p. 18

I-5. Classification des agents renforçateurs selon SANDOW. p. 20

II - Le rôle du calcium dans le couplage excitation-contraction (état actuel des connaissances). p. 24

II-1. Le couplage électro-calcique. p. 24

II-1. 1. La propagation de l'excitant en profondeur. p. 24

II-1.2. La libération du calcium dans le sarcoplasme. p. 25
II-1.3. Origine du calcium libéré. p. 26
II-1.4. La jonction triadique et le mécanisme du couplage électro-calcique. p. 26

II-2. Le couplage calcium-contraction. p. 30

II-2.1. Où agit le calcium ainsi libéré ? p. 30
II-2.2. Où le calcium se fixe-t-il sur les myofibrilles ? p. 32

II-3. Le relâchement de la contraction. p. 33

III - Le rôle de l'ATP dans le cycle contraction-relaxation. p. 36

IV - Propriétés mécaniques du muscle et modèles de la contraction musculaire. p. 38

IV-1. Moyens d'enregistrement de la contraction. Théorie classique de HILL. p. 38

IV-2. Les éléments élastiques en série. p. 42

IV-3. La théorie des filaments glissants. p. 48

IV-4. Conception de l'état actif. p. 52
IV-5. Problèmes posés par les tentatives de modélisation du comportement musculaire. p. 54

V - Théories modernes sur la structure et la dynamique élémentaire du muscle. p. 56

VI - Renforcement de la secousse chez le Mammifère. But du présent travail. p. 66

CHAPITRE III - TECHNIQUES. p. 68

I - Préparations. p. 68

I-1. Diaphragme de Rat. p. 68
I-2. Le lombrical du Rat. p. 68
I-3. Quels types de fibres composent ces muscles ? p. 70

II - Solutions de survie. p. 70

II-1. Milieu normal. p. 70
II-2. Milieux physiologiques modifiés. p. 71

II-2.1. Solution où l'ion chlorure est remplacé par un autre anion : nitrate, bromure, iodure, thiocyanate, perchlorate. p. 71

II-2.2. Solution contenant un cation métallique lourd : uranyle, zinc, cadmium, nickel. p. 71

II-2.3. Solution sans sodium pour l'étude des contractures. p. 74

III - Dispositifs électro-mécaniques. p. 74

III-1. Dissection de la préparation. p. 74

III-2. Enregistrement du potentiel d'action. p. 76

III-2.1. Cuve expérimentale. p. 76

III-2.2. Electrodes de stimulation. p. 76

III-2.3. Electrodes de réception. p. 76

III-2.4. Amplification et enregistrement. p. 77

III-3. Enregistrements mécaniques. p. 77

III-3.1. Enregistrement de la secousse et du tétanos. p. 78

III-3.2. Enregistrement des contractures au potassium. p. 78

III-4. Applications d'étirements et relâchements brefs pendant la contraction. p. 78

III-4.1. Technique appliquée à Orsay. p. 78

III-4.2. Technique appliquée à Louvain. p. 79

IV - Choix des paramètres expérimentaux et interprétation des données. p. 82

IV-1. Potentiels de repos et d'action du muscle. p. 82

IV-2. Secousse et tétanos isométriques. p. 84

IV-3. Contractures provoquées par le KCl. p. 85

V - Activation mécanique maximale par l'ion K^+ p. 85

CHAPITRE IV - RESULTATS p. 89

I - Exposé chronologique de l'expérimentation. p. 89

II - Renforcement de la secousse sous l'action des anions nitrate, bromure, iodure, thiocyanate et perchlorate. p. 91

II-1. Rappel du protocole expérimental. p. 91

II-2. Résultats. p. 91

II-2.1. Augmentation de la tension de la secousse. p. 91

II-2. 2. Modifications apportées au développement et au relâchement de la tension de la secousse. p. 93

II-2. 3. Modification apportée au potentiel d'action des fibres du diaphragme de Rat sous l'action des anions étudiés. p. 94

II-2. 4. Contractures provoquées par le potassium. p. 98

II-2. 5. Discussion des résultats apportés par la mesure des paramètres classiques du renforcement. p. 100

II-2. 6. Caractérisation de la phase de relaxation de la secousse par la détermination graphique de ses divers paramètres. p. 107

III - Renforcement de la secousse sous l'action des cations métalliques lourds : zinc, uranyle, cadmium, nickel. p. 108

III-1. Modifications apportées au potentiel d'action. p. 108

III-2. Contractures au potassium. p. 113

III-3. Renforcement de la secousse. p. 118

III-3. 1. Action du zinc. p. 118

III-3. 2. Action du cadmium. p. 120

III-3. 3. Action du nickel. p. 124

III-3. 4. Action de l'uranyle. p. 126

III-3. 5. Choix de concentrations efficaces. p. 127

IV - Interprétation des résultats en fonction de la classification des agents renforçateurs de SANDOW. p. 128

V - Localisation de l'action des agents renforçateurs. p. 132

V-1. Effet dépresseur de l'ion Zinc. p. 132

V-2. Modification de la concentration en Ca^{++} du milieu. Action de l'uranyle en milieu hypocalcique. p. 134

V-3. Effet propre du tampon Tris. p. 136

V-4. Tentative de localisation de l'action des agents renforçateurs. p. 137

VI - Activation mécanique modulable : étude du décours de la phase ascendante de la secousse à l'aide de la méthode des étirements rapides. p. 139

VI-1. Diagramme tension longueur statique. p. 139

VI-2. Etirements rapides à 20°C et 37°C du diaphragme et du lombrical de Rat. p. 139

VI-3. Action des agents renforçateurs sur la réponse mécanique sous étirement du diaphragme à 37°C. p. 140

VI-4. Activation mécanique maximale lors du tétanos isométrique. p. 148

VII - Etude de la phase de relaxation de la secousse. p. 149

VII-1. Validité de la caractérisation de la relaxation de la secousse par la pent m, et les autres paramètres de la droite. p. 149

VII-2. Les paramètres m et P_D de la droite ont des valeurs caractéristiques selon le type de muscle. p. 152

VII-3. Influence de la concentration en Ca^{++} du milieu sur les paramètres de la droite. p. 158

VII-4. Influence des agents renforçateurs sur la pente m. p. 158

VII-5. Incidence de la température sur la pente m. p. 166

VIII - Interprétation des résultats obtenus. p. 172

CONCLUSION p. 175

RESUME p. 178

ANNEXES p. 181

TABLEAUX DES RESULTATS (I à XVIII)

BIBLIOGRAPHIE

CHAPITRE I

STRUCTURE DE LA FIBRE MUSCULAIRE

Connaître la structure anatomique de la fibre musculaire striée est nécessaire à la compréhension de la contraction musculaire.

La figure 1a schématise la structure d'une fibre musculaire striée de Grenouille, telle qu'elle apparaît au microscope optique : ligne Z, bande A, I et H. L'unité anatomique de la fibre est le sarcomère, structure limitée par les 2 lignes Z consécutives. Les différences de biréfringence en lumière polarisée sont dues à la présence des myofilaments : gros filaments de myosine, seuls formant la bande H, imbriqués avec les filaments d'actine responsables de la bande A, et enfin la bande I formée de filaments fins d'actine, réunis à leurs extrémités au niveau de la ligne Z.

I - Les myofilaments.

La disposition spatiale des filaments est représentée dans le schéma 1b. Chaque filament de myosine est séparé du voisin par un intervalle de 400 à 450 Å, l'arrangement étant hexagonal. Les filaments d'actine ont la même disposition à l'intérieur des filaments de myosine. Chaque filament de myosine est entouré de 6 filaments d'actine, mais chaque filament d'actine n'est en contact qu'avec 3 filaments de myosine. L'espace entre les filaments d'un même faisceau est occupé par le sarcoplasme. Nous emprunterons à H. E. HUXLEY (1969) la description détaillée des filaments à l'échelle moléculaire.

I-1. Le filament de myosine.

La figure 2a schématise la structure du filament de myosine. Cette description fait appel à la connaissance structurale obtenue soit par microscopie électronique et par diffraction aux rayons X de filaments isolés, soit aux connaissances biochimiques des molécules de myosine. Le filament est composé de deux fractions protéiques : la "light meromyosine" (LMM) dont la surface est lisse et qui en se réunissant forme le corps du filament. De là partent des projections constituées par la "heavy meromyosine (HMM). Ces projections apparaissent comme les barreaux de l'échelle formée par le filament et sont encore appelées "têtes" de myosine. La

HMM est formée de deux parties : la première est linéaire et s'attache sur le corps du filament à la LMM, la seconde globuleuse forme la tête de la projection. C'est cette tête globuleuse qui, liée au filament d'actine, va former le pont interfilamentaire ("cross-bridge" des auteurs anglais). La HMM globuleuse est le siège à la fois de sites qui lui permettent de se lier à l'actine et de l'activité enzymatique (ATPase) catalysant l'hydrolyse de l'ATP. Enfin, les molécules de myosine sont arrangées de telle sorte que les têtes de myosine sont disposées de part et d'autre du point milieu du filament (point milieu de la ligne H) comme le montre le schéma 2b. Par conséquent, dans chaque demi-bande A elles ont la même polarité et cette polarité est opposée à celle de l'autre demi-bande A, d'où il résulte que la force engendrée par chaque site d'interaction est orientée vers le milieu de la bande A. (2c).

I-2. Le filament d'actine.

La structure de ce filament est schématisée par la figure 3 (d'après ASHLEY). Ce filament est composé d'un assemblage de molécules d'actine et de troponine, la troponine étant comme enroulée autour du filament d'actine. C'est la molécule de troponine qui est le support de la sensibilité au calcium (EBASHI, 1963). Comme nous le verrons plus loin la liaison du calcium et de la troponine déclenche l'interaction entre l'actine et la myosine.

I-3. Schématisation de la formation des ponts.

Le schéma 4 représente le comportement au repos et pendant la contraction d'une tête de myosine. Au repos la LMM est le long du corps du filament et la tête est loin du filament d'actine. La distance entre les filaments peut varier en particulier avec la longueur du sarcomère. HUXLEY donne une distance de 250 Å pour une longueur du sarcomère de 2 μm, et 200 Å pour 3,1 μm.
Quand le muscle se contracte, la tête se projette vers le filament d'actine où elle se fixe, en formant un angle avec le corps du filament au niveau de la jonction avec la LMM.

II - Le réticulum sarcoplasmique et les tubules transversaux.

La découverte de l'organisation et de la fonction de ces deux structures intracytoplasmiques a permis de progresser dans la connais-

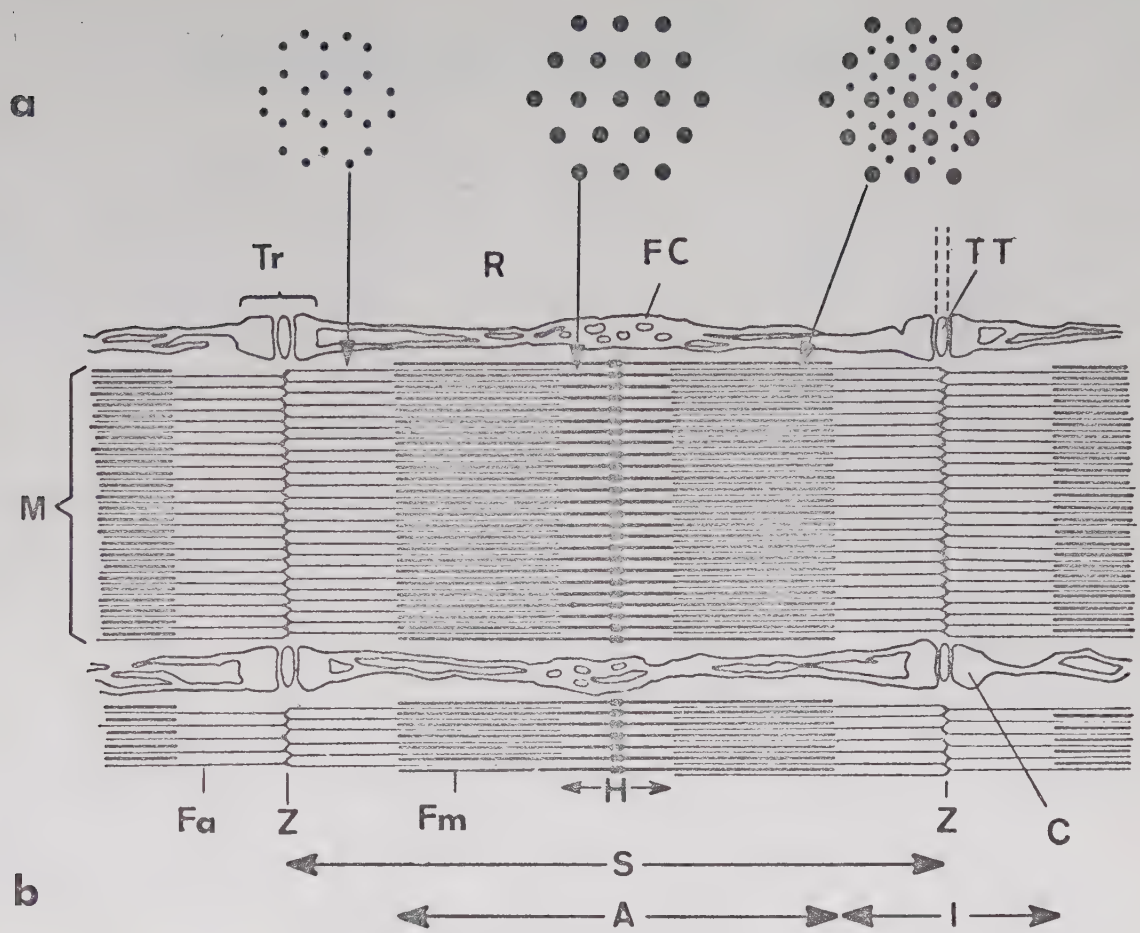
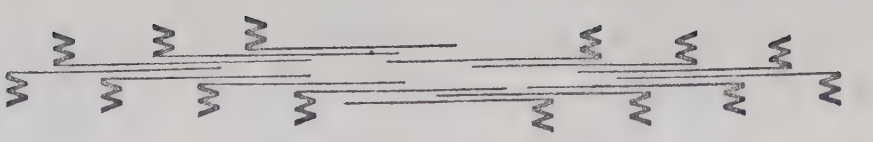


Figure 1 - Représentation schématique de l'ultrastructure de la fibre musculaire striée.

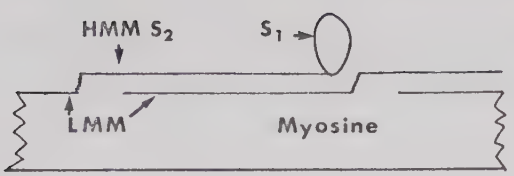
1a - Disposition des filaments d'actine et de myosine au niveau de la bande A, de la bande H et de la bande I.

1b - S : sarcomère ; A : bande anisotrope ; I : bande isotrope ;
Z : ligne Z ; M : myofibrilles ; Fm : filament de myosine ;
Fa : filament d'actine ; R : réticulum sarcoplasmique longitudinal ;
C : citerne terminale ; T. T. : tubules transverses ; Tr : triade ;
F. C. : fenestred collar ;

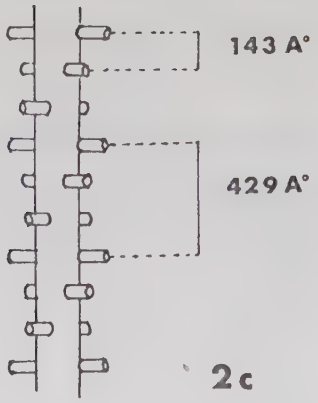
La striation est celle que l'on trouve chez la Grenouille.



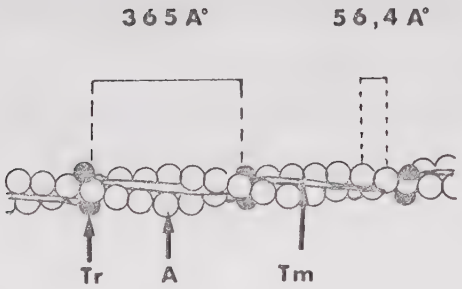
2a



2b



2c



3

Figure 2 - Le filament de myosine (d'après H. E. HUXLEY, 1969).

2a - Schéma représentant le mode de répartition des molécules de myosine et indiquant l'inversion de polarité pour chaque demi-sarcomère.

2b - Schéma représentant la disposition des têtes de myosine sur le filament.

2c - Schéma de la disposition des molécules formant la tête de myosine : LMM:light mero-myosin ; HMM:heavy mero-myosin ; $HMMS_1$:partie linéaire et $HMMS_2$: partie globuleuse de la heavy mero-myosin.

Figure 3 - Le filament d'actine (d'après ASHLEY).

Diagramme représentant l'assemblage des molécules formant le filament fin. A:molécules de G. actine, Tr : molécules de troponine ; Tm : molécules de tropomyosine.

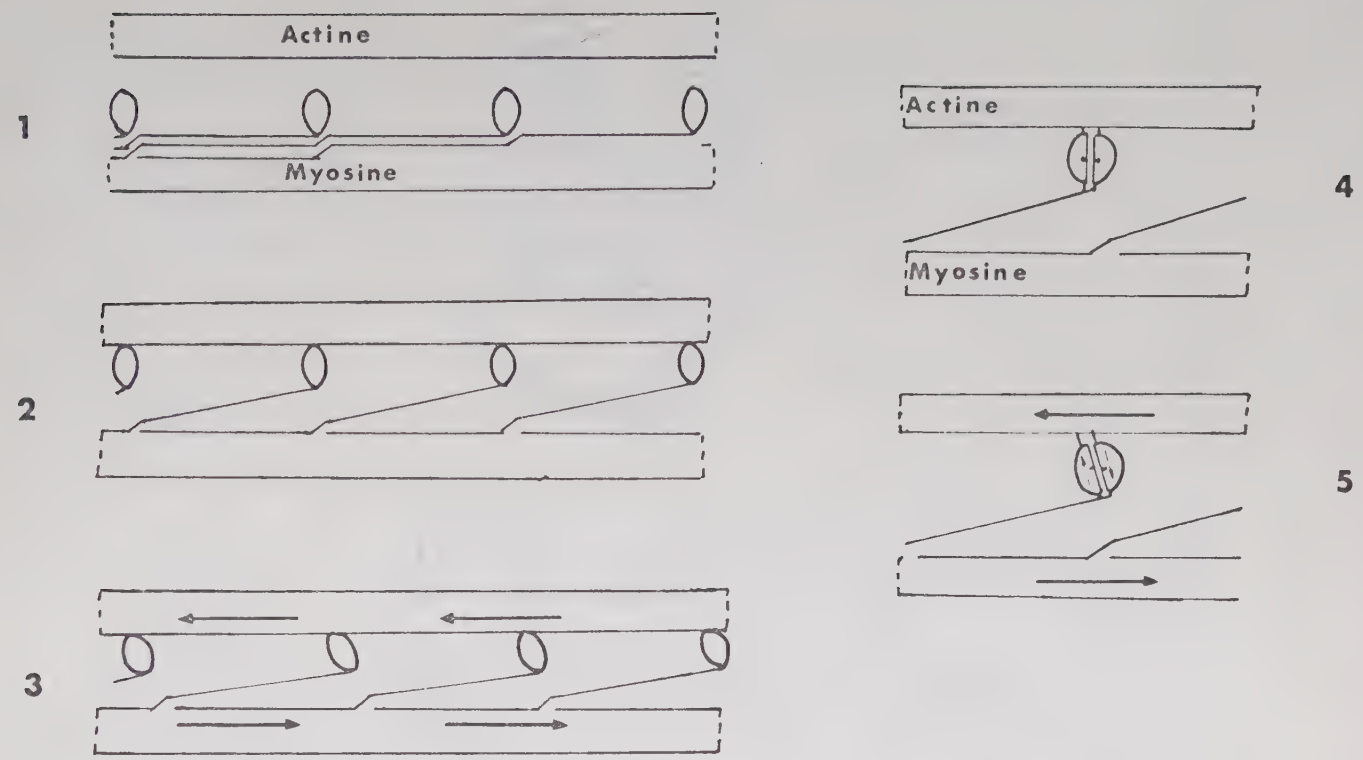


Figure 4 - Schéma indiquant le mécanisme par lequel la formation des ponts entre l'actine et la myosine entraîne un glissement des filaments l'un par rapport à l'autre.

1 - en état de repos

2 - les têtes de myosine se sont fixées sur les sites du filament d'actine.

3 - Glissement des filaments l'un par rapport à l'autre avec inclinaison de la tête grâce à l'élasticité de la jonction avec le corps du filament.

4 - 5 - Détail du mouvement entre les deux moitiés de la tête permettant son inclinaison.

sance du couplage entre l'excitation de la membrane sarcoplasmique et la contraction des myofibrilles.

II-1. Les tubules transversaux.

Récemment de nombreux travaux ont décrit cette structure et ses rapports d'une part avec la membrane sarcoplasmique et le milieu extérieur, d'autre part avec le sarcoplasme et le réticulum sarcoplasmique. Les tubules peuvent être considérées comme des invaginations de la membrane plasmique, dont la lumière débouche sur le milieu extérieur. Cette conception semble bien établie maintenant depuis les observations au microscope électronique de la fibre musculaire striée de Grenouille, FRANZINI-ARMSTRONG (1964), BIRKS (1965), la pénétration de particules telle la ferritine (diamètre moléculaire 110 Å) dans la lumière des tubules H. E. HUXLEY (1964), PAGE (1964) qui peuvent être lavées par immersion dans une solution physiologique dépourvue de particules. Mac CALLISTER et HADEK (1970) utilisant le microscope électronique à balayage montrent de fort belles photographies de la surface cellulaire où l'on voit les ouvertures des tubules alignées à la jonction de la bande I et des lignes Z. La nature de la membrane des tubules est encore discutée (origine ou non sarcoplasmique). Mais son rôle est capital dans le couplage entre la dépolarisation de la membrane sarcoplasmique et la libération du calcium dans le sarcoplasme (voir chapitre II, II-1).

Les tubules constituent dans le sarcoplasme, en s'accolant avec les canaux intracytoplasmiques du réticulum, des formations particulières nommées triades.

II-2. Le réticulum sarcoplasmique.

Les faisceaux longitudinaux de myofibrilles sont séparés par un réseau de canalicules fermés connus depuis 1902 (VERATTI) mais oubliés jusqu'en 1953 où BENNETT et PORTER les redécouvrent au microscope électronique. Nous verrons en détail comment le rôle de séquestration du calcium (chapitre II, III) et sa libération lors de l'excitation (chapitre II, I-3) a été attribué à cette formation sarcoplasmique. Les canalicules du réticulum courent le long des fibrilles sur toute la longueur du sarcomère et se terminent auprès des tubules par un renflement appelé citerne.

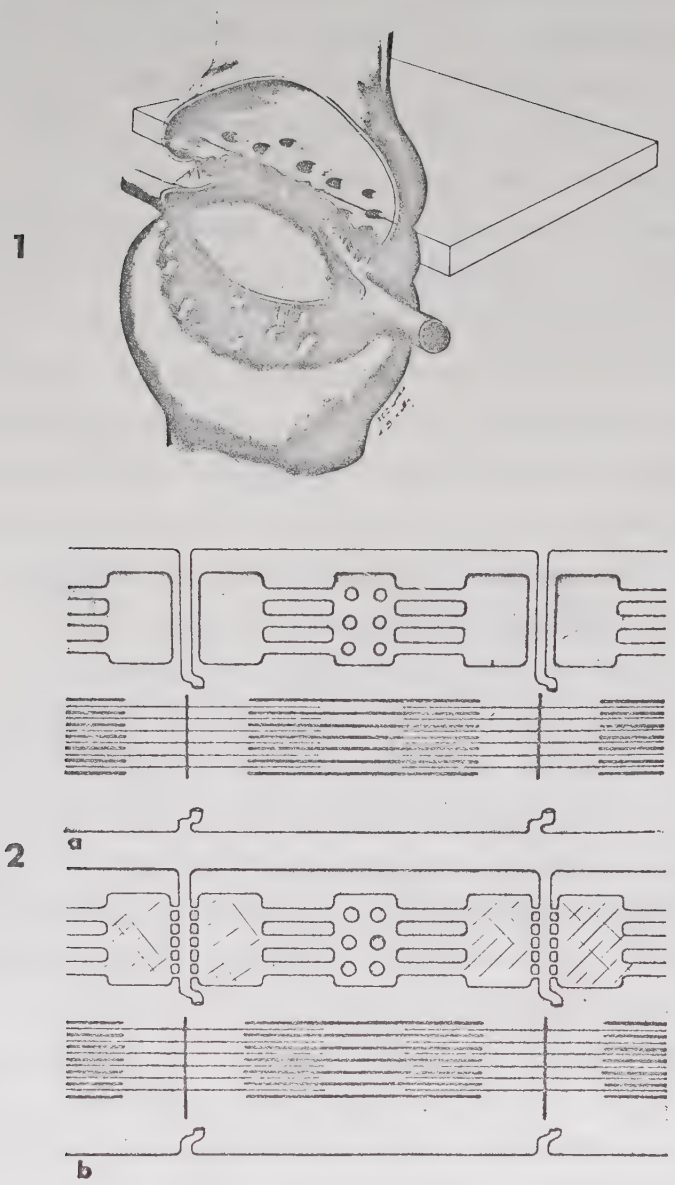


Figure 5 - La triade.

1 - Représentation anatomique d'après l'ultrastructure révélée en microscopie électronique (KELLY, 1969).

2 - Schéma indiquant le mode de jonction entre le tubule et la citerne du réticulum : isolement (a) ou communication (b) entre la lumière du tubule (et le milieu extérieur) et le liquide à l'intérieur de la citerne (BIRKS, 1964).

II-3. La triade.

La structure anatomique formée par les deux citernes du réticulum et l'extrémité du tubule a été nommé triade ou jonction triadique, ce qui présage déjà de son rôle. Chez les Amphibiens comme chez les Mammifères, la disposition de cette structure par rapport à la striation varie selon les espéces et selon le type de muscle : chez la Grenouille elle correspond à la ligne Z pour le muscle squelettique, de même pour le muscle cardiaque de Mammifère (comme c'est le cas de la "diade" des Invertébrés). Sur la figure 1a, ces diverses structures sont schématisées chez la Grenouille, donc au niveau de la ligne Z. L'anatomie fine de la triade, dont le dessin de la planche 5a donne une bonne idée, soulève de nombreuses controverses. En effet KELLY (1969) responsable de cette visualisation, déclare ne pas observer de continuité entre la membrane du tubule et les citernes, et note la présence de matériel dense dans cet espace. Par contre, BIRKS (1965) propose un schéma, figure 5b, où l'on voit des pores assurer une continuité liquidienne entre la lumière des tubules et les citernes du réticulum. Un certain nombre d'expériences viennent appuyer cette hypothèse : modifications du volume du réticulum sarcoplasmique liées aux modifications de la pression osmotique du milieu extérieur, BIRKS et DAVEY (1968), pénétration de particules telle la ferritine dans les parties latérales des citernes (FRANZINI-ARMSTRONG, 1971) qui note aussi l'absence de matériel dense ; pénétration de la peroxydase de raifort dans le tubule et les deux citernes (KULCZYCKY et MAINWOOD, 1971; RUBIO et SPERELAKIS, 1971). Enfin nous verrons que le calcium présent dans la lumière des vésicules est à une concentration voisine de celle du milieu extérieur (environ 1 millimole). Cette possibilité de continuité entre le liquide vésiculaire et le milieu extérieur sera au centre de nombreuses discussions dans ce travail.

Le rôle de la jonction triadique est capital : elle est le lien entre la dépolarisation de la membrane via le tubule et la libération du calcium par les citernes dans le sarcoplasme (voir chapitre II, II-4).

III - La membrane sarcoplasmique.

Elle forme la limite entre le cytoplasme de la cellule musculaire et le milieu extérieur. Les autres enveloppes de la fibre musculaire ont un rôle de soutien, en particulier l'enchevêtrement de fibrilles collagènes (ressemblant à un blindage de câble électrique) est le support de

l'élément élastique en parallèle (voir chapitre II, IV-2) et joue un rôle dans le maintien du volume cellulaire.

Au repos la membrane sarcoplasmique est polarisée électriquement : la face interne de la membrane est négative par rapport à l'extérieur. Cette différence de potentiel entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule est due à une différence de concentration entre principalement, les ions sodium, potassium et chlore (suivant l'équation de NERNST). Le potentiel de repos est de -90 mV à l'intérieur de la cellule. Lors de l'excitation de la membrane (à la suite soit du fonctionnement de la synapse, soit d'une stimulation électrique directe) il se produit une onde de dépolarisation propagée de façon régénérative : c'est le potentiel d'action. Cette dépolarisation est brève, 1 à 2 ms, et elle est due à une modification des perméabilités ioniques de la membrane (entrée de sodium dans la fibre). La membrane est formée d'un arrangement de molécules de lipides et de protéines. Le schéma le plus généralement admis est celui de ROBERTSON. La surface externe de la membrane est formée de pôles moléculaires présentant en particulier des groupements phosphoryles et sulhydriles. Les groupes phosphoryles jouent un rôle dans le transport des sucres à travers la membrane. Nous verrons que les cations, en particulier l'uranyle et le nickel, s'y fixent et interfèrent avec ce transport en diminuant la possibilité de pénétration des sucres. Le lecteur trouvera une revue détaillée de phénomènes membranaires en particulier chez ROTHSTEIN (1968).

IV - Les mitochondries.

Parmi les autres organites cellulaires, seules les mitochondries retiendront notre attention. Outre leur rôle dans les processus respiratoires, elles peuvent fixer les ions calcium. Cette fixation au niveau de la membrane peut emprunter plusieurs mécanismes dont le plus important est couplé à une fourniture d'énergie (oxydation ou hydrolyse de l'ATP). Les deux autres n'en requièrent pas, le second étant lié à un transport d'ion phosphate inorganique (ROTHSTEIN, 1968 ; CARAFOLI, 1969).

La localisation des mitochondries dans les fibres squelettiques de Rat diffère selon le type de fibre : dans le cas des fibres rouges, les mitochondries sont très abondantes à la fois dans le sarcoplasme, le séparant des premiers faisceaux de myofibrilles, et entre les faisceaux de myofibrilles où elles forment des chaînes. Dans les fibres de type blanc,

elles sont peu abondantes, en particulier à la périphérie, et filamenteuses. Dans les fibres de type intermédiaire, le nombre et la répartition des mitochondries sont proches du type rouge mais avec moins d'abondance. Dans les trois cas, à l'intérieur de la fibre, les mitochondries sont réparties par couples au niveau des bandes I, envoyant des prolongements qui entourent les myofibrilles. (GAUTHIER et PADYKULA,1966).

Ce transport de calcium et cette disposition anatomique des mitochondries chez le Mammifère, ont conduit GILLIS(1972) à formuler une hypothèse intéressante sur les mécanismes de séquestration du calcium (voir chapitre II, III).

V - Définition anatomique et histo-chimique des différents types de fibres squelettiques chez le Mammifère.

Chez le Mammifère, les fibres musculaires sont toutes du type dit rapide chez la Grenouille, c'est à dire ont une membrane plasmique capable de propager un potentiel d'action. Mais, ce qui les différencie, c'est la vitesse à laquelle la contraction est maximum, lors d'une secousse, d'où une distinction entre fibres rapides phasiques et lentes toniques. Cette distinction physiologique est liée à des différences morphologiques. La plus évidente est la différenciation, à l'oeil nu, entre fibres rouges, riches en myoglobine et fibres blanches. Mais elle n'est pas suffisante et, actuellement, on définit trois types de fibres selon des critères, à la fois de coloration, de morphologie, et surtout de localisation enzymatique.

On peut donc distinguer avec CLOSE (1972) trois types de fibres chez le Mammifère :

- les fibres blanches de grand diamètre, riches en enzymes glycolytiques, pauvres en enzymes oxydatifs et en mitochondries, ayant une activité ATPasique myofibrillaires élevée ;

- les fibres rouges, petites, moins riches en enzymes glycolytiques que les fibres blanches, ayant un taux élevé d'enzymes oxydatifs et riches en ATPases myofibrillaires ;

- Les fibres de type intermédiaire, pauvres en enzymes glycolytiques, ayant un taux moyen d'enzymes oxydatifs, pauvres en ATPase myofibrillaire.

La plupart des muscles squelettiques sont formés d'un mé-

lange de ces divers types de fibres. Les fibres blanches et rouges ont des vitesses de contraction rapide, tandis que les fibres de type intermédiaire sont lentes. Nous verrons au chapitre III, la composition des muscles que nous avons utilisés.

D'autre part, il existe aussi des différences entre les fibres blanches et rouges au niveau du réticulum sarcoplasmique (SRETER, 1969). La quantité de calcium fixé, et la vitesse de fixation du calcium sont moindres pour le réticulum sarcoplasmique des fibres de type rouge que pour celui des fibres blanches. Ces deux facteurs jouent évidemment sur la durée du maintien de la contraction.

D'autre part, SRETER signale une différence saisonnière, l'activité étant réduite en été, et ce pour les deux types de fibres.

SRETER et WOO (1963) constatent une variation de concentration interne en sodium et en potassium selon le type de fibre. Les muscles composés de fibres blanches ont une concentration interne $[Na_i]$ en sodium plus faible et une concentration en potassium $[K_i]$ plus forte que les muscles à fibres rouges, d'où une variation du rapport $\frac{[K_i]}{[Na_i]}$ selon la composition du muscle.

Nous pourrions citer d'autres différences existant entre les divers types de fibres et donc de muscles, mais leur lien avec les propriétés contractiles qui nous intéressent est plus difficile à établir.

——— 0 ———

CHAPITRE II

DONNEES ACTUELLES SUR LE COUPLAGE EXCITATION CONTRACTION

L'excitation de la membrane d'une fibre musculaire déclenche une séquence d'évènements qui conduisent à l'activation du matériel contractile à l'intérieur de la fibre. L'ensemble de ces processus a été nommé "couplage excitation contraction" par SANDOW (1952).

Chez l'animal, cette excitation de la membrane se traduit par la propagation d'une onde de dépolarisation appelée potentiel d'action de la fibre musculaire dans le cas de fibres dites rapides des muscles striés. Elle fait suite à l'excitation du nerf, transmise par l'intermédiaire de la plaque motrice (jonction neuromusculaire) génératrice d'une série d'évènements complexes aboutissant à la dépolarisation de la membrane sarcoplasmique.

Nous considérerons seulement dans notre travail, la dépolarisation de la membrane provoquée directement sur le muscle in vitro, soit par stimulation électrique, dépolarisation brève appliquée entre deux électrodes, donnant lieu à un potentiel d'action propagé, soit en modifiant la composition ionique du liquide physiologique de survie dans lequel baigne le muscle, engendrant une dépolarisation simultanée de toute la membrane (élévation de la concentration en ions K^+ du milieu). Dans le premier cas, on enregistre unecontraction musculaire et dans le second nous observons une contracture.

Le lien entre l'excitation et la contraction est resté inconnu jusque ces dernières années, et de nombreux expérimentateurs se sont penchés sur ce problème en utilisant des moyens d'approche indirects pour tenter de l'élucider.

L'étude des phénomènes de renforcement de la secousse est l'un d'entre eux. Il a été largement utilisé pour essayer de comprendre les mécanismes par lesquels la dépolarisation de la membrane déclenche l'activité contractile et ceux, sous-jacents au déroulement de la contraction, jusqu'à la relaxation et le retour du muscle au repos.

Lorsque nous avons commencé ce travail en 1967, les recherches sur le couplage excitation contraction avaient essentiellement porté

sur le muscle de Grenouille, à l'exception des publications de Nicole CARPENI (1963) et de BRUST (1965). Nous l'avons entrepris pour tenter de mieux connaître les mécanismes du couplage excitation contraction chez le muscle de Mammifère, à la température voisine de celle in-vivo (37°) à l'aide des phénomènes de renforcement de la secousse.

I - Définition du couplage excitation contraction. Moyens d'étude.

I-1. Définition du phénomène de renforcement de la secousse.

Des agents de nature très diverse (ions, drogues) augmentent la tension produite lors d'une secousse musculaire sans que la tension tétanique soit modifiée. Ce phénomène est appelé renforcement de la secousse (potentiation des auteurs anglo-saxons). Pour qu'il y ait renforcement de la secousse, il est de plus nécessaire que la réponse mécanique succède à un seul potentiel d'action. En effet, divers agents transforment la réponse électrique de la fibre musculaire à un stimulus unique en une réponse multiple, composée d'une série de potentiels d'action. La réponse mécanique correspondante est alors un bref tétanos et non plus une secousse, et l'augmentation de tension enregistrée est tout à fait différente d'un renforcement de la secousse. Malgré cette précaution, certains agents parmi ceux utilisés, selon les conditions expérimentales, peuvent présenter ces deux types d'action. Aussi le plus grand soin doit être apporté pour éliminer cette éventualité.

A propos d'expériences menées chez la grenouille, particulièrement par SANDOW et ses collaborateurs, nous exposerons d'abord, comment les faits connus concernant le renforcement de la secousse ont permis de faire progresser la connaissance du couplage excitation contraction.

I-2. Le concept d'état actif.

A. V. HILL proposa un modèle de la fibre musculaire striée : la fibre musculaire est composée d'éléments contractiles en série avec des éléments élastiques. Lors d'un tétanos, lorsque les éléments élastiques en série sont allongés, on enregistre une tension qui se maintient en plateau, et qui est le degré d'activité maximum que le muscle peut fournir. Pendant une secousse isométrique, évènement bref, les éléments contrac-

tiles n'ont pas le temps de provoquer l'allongement complet des éléments élastiques en série, la tension fournie n'atteint donc pas le degré d'activité maximum. L'action de la température sur la réponse mécanique en est une illustration : chez la Grenouille à 0°C la durée de la secousse est considérablement allongée, en particulier le temps de contraction (phase ascendante de la secousse). La tension enregistrée est alors très proche de la tension tétanique. Le rapport tension de la secousse/ tension du tétanos isométrique est voisin de 0, 7 à 0°C et tombe à 0, 2 à 21°C A. V. HILL, 1951). HILL suppose que le degré d'activité est maximum dès l'excitation, mais qu'il n'a pas le temps de se manifester complètement du fait de la brièveté de la secousse. A. V. HILL (1949) étaie cette hypothèse par des expériences où il provoque des étirements brefs (quick-stretch) à la fin de la période de latence (entre l'excitation et le début de l'apparition de la contraction) de manière à étirer les éléments élastiques en série, et à permettre aux éléments contractiles de manifester leur degré d'activité maximum par une tension voisine de la tension tétanique. Il réalise ces expériences sur des muscles de Grenouille à 0°C. (Voir figure 6).

Nous reviendrons sur ce travail de HILL (voir chapitre V) ayant nous-même appliqué cette technique au diaphragme du Rat. HILL définit donc le degré d'activité, mesure quantitative de l'état actif, comme la force que le muscle peut soutenir sans s'allonger ni se raccourcir. L'intensité de l'état actif est entièrement définie par la relation caractéristique de HILL reliant entre elles la tension fournie et la vitesse de raccourcissement (voir chapitre II, IV-1).

Selon HILL, l'état actif correspond donc à l'état dans lequel les éléments contractiles de la fibre musculaire striée sont capables de se raccourcir, ou de fournir une extra-tension à longueur constante.

Il constate que l'état d'activité commence dans les premières millisecondes après le stimulus et qu'il atteint son maximum après environ 40 ms (HILL, 1949b) chez la grenouille à 0°C.

De nombreux auteurs ont essayé de définir le moment exact après un stimulus où le muscle devient pleinement actif. Comme HILL, ABBOTT et RITCHIE (1951) suggèrent qu'il y a une transition abrupte du repos à la pleine activité de l'ordre de 20 à 25 ms après le stimulus. Mac PHERSON et WILKIE (1954) indiquent une durée de 45 ms après le stimulus pour le plateau de pleine activité.

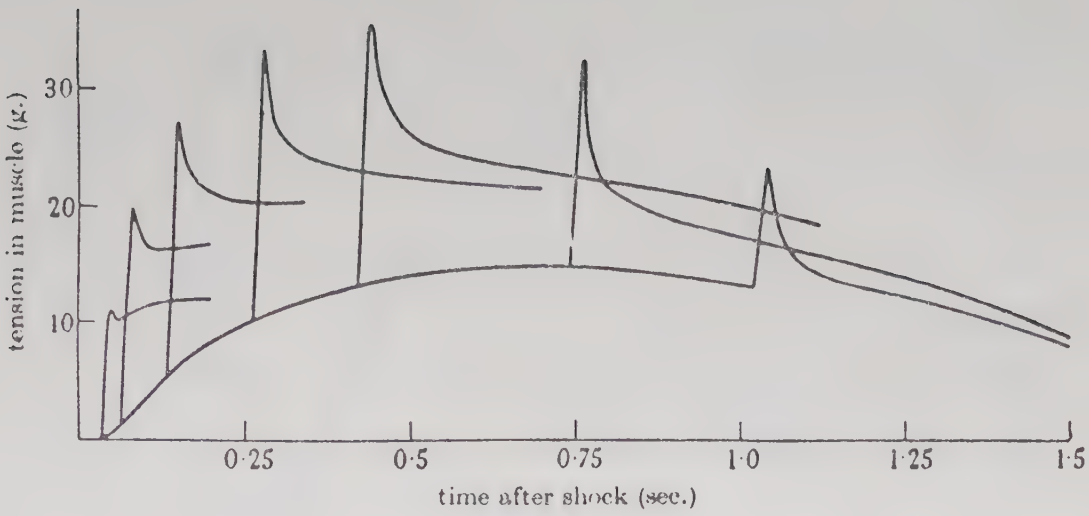


Figure 6 - (A. V. HILL, 1949, g).

Etirement rapide de 10% de la longueur initiale appliqué à des délais variables après un choc unique, maximal.
Crapaud, couturier à 0°C. Tension maxima obtenue légèrement supérieure à la tension tétanique. (Rapport moyen entre ces deux valeurs : 1,15).

Ceci amena les expérimentateurs à tenter de déduire expérimentalement une courbe théorique dite "courbe de l'état actif":

La figure 7 résume les modifications apportées à la secousse et schématise le décours de l'état actif.

Lors d'une secousse d'un muscle traité :

1)la tension met un temps plus long pour atteindre son maximum (durée de la phase ascendante de la secousse).

2)de même la durée de la chute de la tension est prolongée (durée de la phase descendante).

3)d'où un allongement de la durée totale de la secousse.

4)la courbe schématique de l'état actif montre un allongement de sa durée.

En conclusion on observe une augmentation de la tension fournie par la secousse qui peut s'expliquer ainsi : l'élément contractile est pleinement actif pendant un temps plus long, il peut donc se raccourcir pendant plus longtemps, étirer davantage l'élément élastique et donc produire une tension plus grande.

SANDOW (1964) considère que les agents "potentiateurs" connus agissent tous en prolongeant la durée de l'état actif, et que les deux critères indirects :

-accroissements de la tension de la secousse sans modification de la tension tétanique.

-allongement de la durée de la phase ascendante de la secousse,

sont des conditions nécessaires et suffisantes pour définir le phénomène de renforcement.

I-3. Phénomène de renforcement de la secousse et durée du potentiel d'action.

Nous avons vu que l'évènement initial du couplage excitation contraction est la dépolarisation de la membrane de la fibre musculaire striée. La question se pose de savoir si cette dépolarisation joue simplement un rôle de mise en route de l'activité mécanique, ou bien si elle "pilote" en quelque sorte cette dernière. L'étude des agents renforçateurs de la secousse a permis d'apporter une réponse bien avant que soient mieux connus les mécanismes du couplage et en particulier le rôle du calcium que nous exposerons plus loin. Les expériences de potentiation par les anions anormaux (ETZENSPERGER et BRETONNEAU, 1956 ; BENOIT

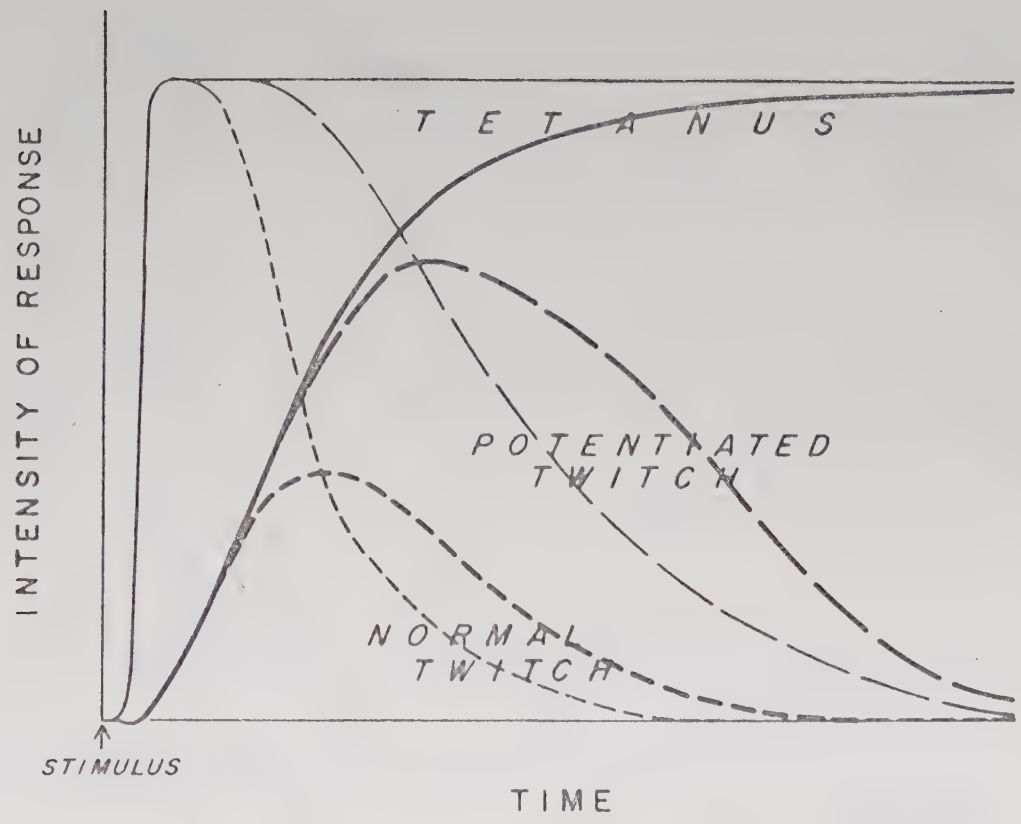


Figure 7 - Schéma de l'action des agents renforçateurs, d'après SANDOW (1964).

En abscisses : temps écoulé depuis l'application d'un stimulus bref.

En ordonnées : les courbes en trait fin représentent le degré d'activité théorique selon HILL, les courbes en trait gras les tensions des réponses mécaniques réelles.

Traits continus : tétanos.

Traits interrompus : petits intervalles : secousse normale ;
grands intervalles : secousse renforcée.

ETZENSPERGER et SANTINELLI, 1957) par l'ion potassium (ETZENSPERGER, 1961a) par l'activité préalable (ETZENSPERGER, 1961b) par la vératrine (ETZENSPERGER, 1962) par les cations lourds zinc, uranyle, cadmium (ISAACSON et SANDOW, 1963 ; SANDOW et coll., 1964, 1965, 1966 ; EDMAN, GRIEVE et NILSSON, 1966) ont amené ces auteurs à considérer qu'au cours de chaque cycle de fonctionnement, l'état actif était maintenu d'autant plus longtemps que le potentiel d'action dépassait pendant une durée plus grande un certain niveau critique.

Cette relation entre l'allongement de la durée du potentiel d'action et celui de la durée de l'état actif en présence de zinc pour une fibre unique de grenouille est illustrée par la figure 8 d'après EDMAN, GRIEVE & NILSSON (1966). Dans ces expériences, une augmentation de 1 ms de la durée du potentiel d'action, au niveau de potentiel -25 mV, est associée à une prolongation de la durée de l'état actif de 7 à 15 ms.

Nous voyons ici apparaître la notion d'un niveau de dépolarisation critique. Ce niveau critique, mis en évidence par HODGKIN et HOROWICZ (1960) a été nommé "seuil mécanique de dépolarisation".

I-4. Renforcement de la tension et variation du seuil mécanique de dépolarisation.

HODGKIN et HOROWICZ, utilisant une fibre unique de grenouille, ont étudié les contractures provoquées par l'augmentation de la concentration en ion potassium du milieu extérieur. L'amplitude des contractures est fonction de la concentration en ion potassium, de même que la dépolarisation de la membrane. Ils enregistrent simultanément la réponse mécanique et la dépolarisation membranaire : d'où la détermination d'un seuil de dépolarisation où ils voient apparaître une réponse mécanique. En présence d'ions anormaux (nitrate) ce niveau de dépolarisation est abaissé de -50 ms à -65 ms.

FRANK (1961) fait une constatation similaire en substituant le brome au chlore.

Des expériences de HODGKIN et HOROWICZ les faits suivants ressortent :

1) il existe une valeur seuil de la dépolarisation de la membrane à partir de laquelle on enregistre une tension.

2) La relation entre le tension de la contracture et le potentiel de mem-

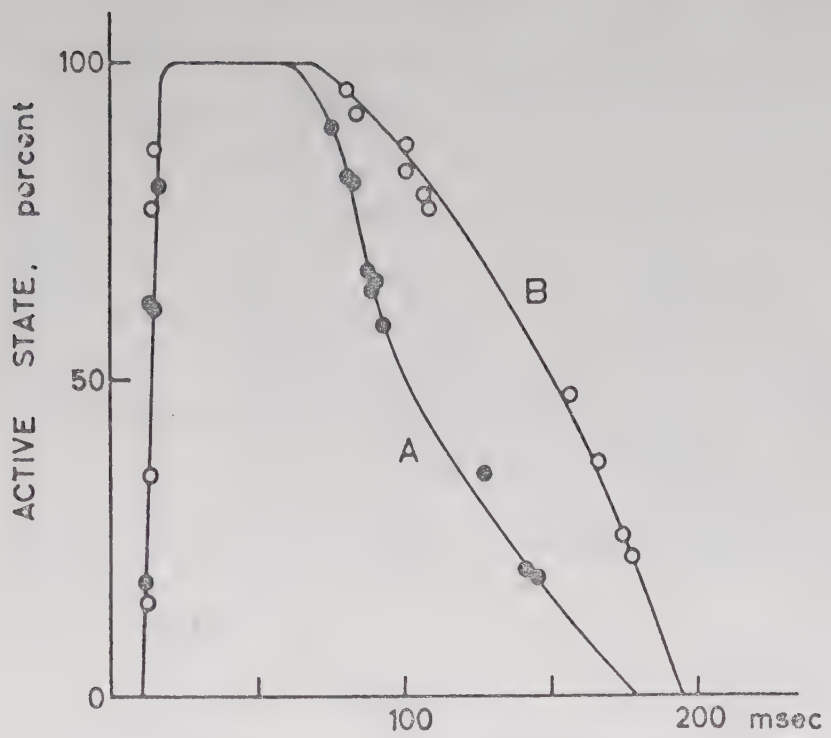


Figure 8 - Courbes de l'état actif obtenues à partir d'enregistrement d'une fibre isolée de semi-tendineux de Grenouille (40°C). (EDMAN, GRIEVE et NILSSON, 1966).

En A : Ringer normal ;

En B : en présence de 5 μM de SO_4Zn.

brane, au dessus du seuil, est une courbe de forme sigmoïde. Le potentiel de membrane est une fonction linéaire du logarithme de la concentration en ion potassium du milieu extérieur (assimilation à une pile de concentration).

3)La tension enregistrée est maximum pour un potentiel de membrane voisin de -20ms, on parle de saturation mécanique pour ce niveau de dépolarisation car le degré d'activité est maximum tant que la dépolarisation es est maintenue au dessus de cette valeur.

Cette abaissement du seuil mécanique de dépolarisation est net dans le cas des divers anions anormaux et aussi de la caféine. Par contre, les cations divalents, chez la Grenouille, ne le modifient pas et même, dans certaines conditions, le zinc en particulier (TAYLOR, PREISER et SANDOW, 1972) peuvent l'élever.

L'ensemble des modifications apportées par les agents renforçateurs de la secousse sur la durée du potentiel d'action, le seuil mécanique de dépolarisation et la tension sont résumées dans la figure 9 (SANDOW, 1964).

Lorsque la dépolarisation de la membrane par le potentiel d'action atteint et dépasse le seuil mécanique de dépolarisation, le système contractile commence à être activé. L'activation croît jusqu'à une valeur maximale (niveau de saturation mécanique). En encart sur la figure 9 est reproduite la courbe d'activation selon HODGKIN et HOROWICZ. Pendant toute la durée où la dépolarisation est maintenue au-dessus du niveau de saturation mécanique, l'activation est maximale. L'activation mécanique persiste tant que la dépolarisation se maintient au-dessus de -50 mV. Le potentiel consécutif négatif est habituellement au-dessous de ce seuil.

I-5. Classification des agents renforçateurs selon SANDOW.

L'ensemble des faits exposés ci-dessus a conduit SANDOW (1964) à proposer de regrouper selon leur mode d'action les agents renforçateurs (complétant ainsi une classification proposée par ETZENSPERGER en 1962).

Les différents types d'agents potentiateurs sont schématisés sur la figure 10 :

-le type A correspond au nitrate et aux anions de la série lyotropique (iodure, bromure, thyocyanate) qui agissent essentiellement en abaissant le seuil mécanique de dépolarisation.

-le type B, inclut les potentiateurs comme les cations métalliques lourds

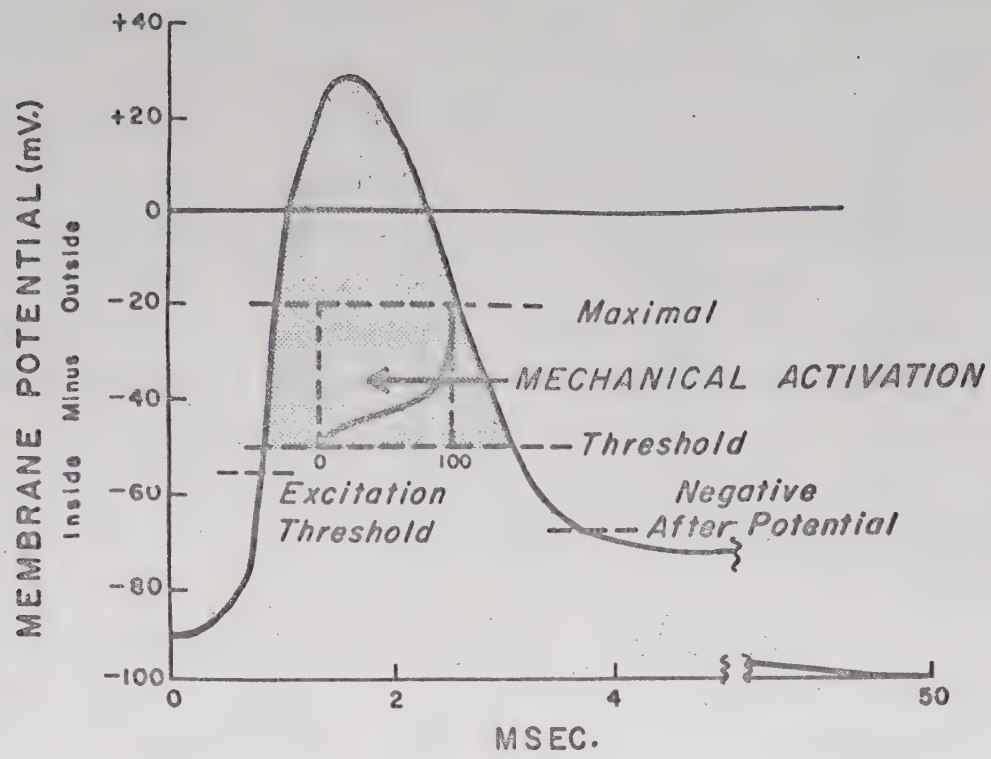


Figure 9 - Schéma représentant les relations entre les phénomènes électriques et mécaniques lors d'une secousse normale de couturier de Grenouille (SANDOW, 1964).

La courbe en trait plein représente le potentiel d'action. La partie grisée représente la fraction du potentiel d'action capable d'activation mécanique, avec un seuil à -50 mV et un effet maximum à -20 mV.
La courbe en encart représente le degré d'activation (d'après HODGKIN et HOROWICZ) entre le seuil et le maximum en fonction du potentiel de membrane.

Il est à noter que le potentiel consécutif négatif est au-dessous du seuil mécanique de dépolarisation.

(zinc, cadmium) agissant en allongeant la durée du potentiel d'action surtout en prolongeant la phase descendante.

-le type C, où l'on retrouve des drogues, principalement la caféine et la quinine, agit en combinant les effets des deux types A et B. Ils abaissent le seuil mécanique et allongent légèrement la durée du potentiel d'action.

Un quatrième type pourrait être ajouté à cette classification. En effet, le renforcement de la secousse sous l'action d'une acidification du milieu est faible en dépit d'un allongement considérable du potentiel d'action (PRZYBYSLAWSKI, LAXENAIRE et POULAILLER, 1967). Il peut s'expliquer par une élévation concommitante du seuil mécanique.

De même, des concentrations élevées de zinc, si elles allongent considérablement le potentiel d'action élèvent aussi le seuil mécanique (TAYLOR, PREISER et SANDOW, 1972). Il y aurait donc place pour un type Cbis.

Nous avons vu qu'il existe une grande différence entre la période efficace du potentiel d'action (1 à 2 ms) et la durée de l'état actif (quelques dizaines de ms) ainsi que celle de la secousse. L'interprétation des premiers expérimentateurs, et en particulier SANDOW, est que le potentiel d'action est à l'origine de la libération d'une substance activatrice dans le sarcoplasme. Nous allons faire le point de l'acquis en ce domaine depuis 1965, date où le rôle capital du calcium commençait à apparaître. Nous suivrons encore SANDOW (1970) en décomposant le couplage excitation contraction en deux grands chapitres :

-le couplage électro-calcique qui de l'excitation mène à la libération du calcium dans le sarcoplasme,

-et le couplage calcium-contraction, activation du mécanisme contractile par le calcium.

Enfin, nous résumerons les évènements qui ramènent la fibre musculaire à l'état de repos.

Une étude complète au niveau de la fibre isolée du muscle de Crustacé et des muscles de Rat vient de paraître avec la thèse de GILLIS (1972).

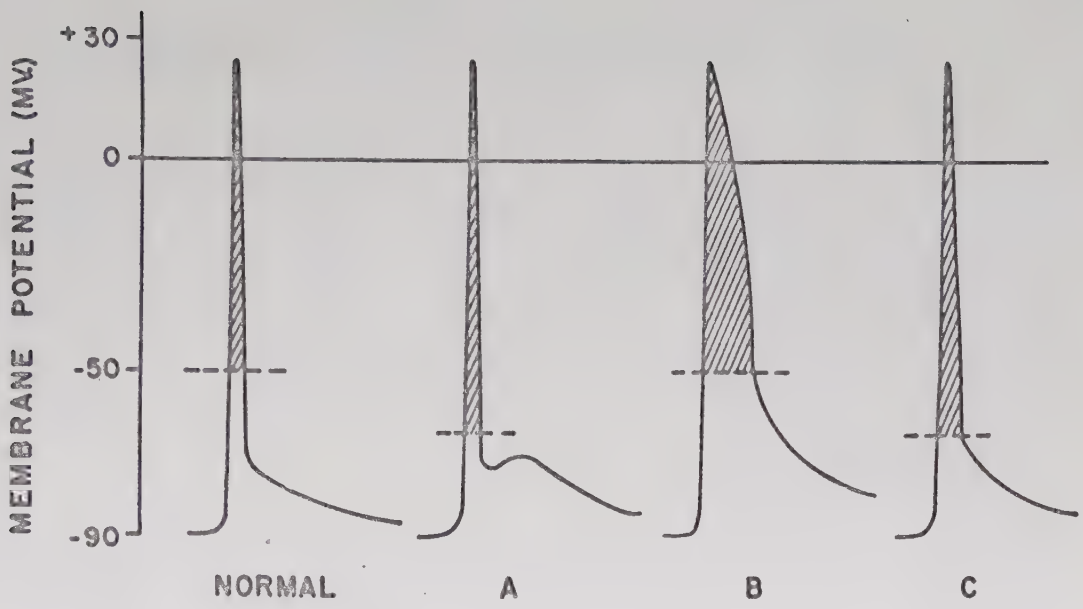


Figure 10 - Classification des agents renforçateurs de la secousse selon SANDOW (1964).

En A : type des anions de la série lyotropique, action par abaissement du seuil mécanique de dépolarisation figuré par un trait en pointillé.

En B : type des cations métalliques lourds (ex : Zn^{++}), action par prolongation de la durée du potentiel d'action (en grisé la fraction mécaniquement active du potentiel d'action).

En C : cas de certaines drogues telle la caféine ; action simultanée des deux facteurs.

II - Le rôle du calcium dans le couplage excitation-contraction (état actuel des connaissances).

II-1. Le couplage électro-calcique.

II-1.1. La propagation de l'excitant en profondeur.

Comme HILL (1948) l'avait fait remarquer, la diffusion d'une substance activatrice à partir de la membrane sarcoplasmique à la suite d'un potentiel d'action, mettrait plusieurs dizaines de millisecondes pour parvenir au centre d'une fibre de 100 μ de diamètre, ce qui est incompatible avec la rapidité de la contraction. GONZALES-SERRATOS a montré en 1971, que moins d'une milliseconde après le passage du potentiel d'action, les myofibrilles centrales étaient activées (0, 5 ms à 20° pour une fibre isolée de Grenouille).

HUXLEY et TAYLOR (1958) ont les premiers attribué aux tubules transversaux du réticulum sarcoplasmique, un rôle dans la diffusion de l'excitation en profondeur. Actuellement, à la suite d'un choc osmotique, on peut préparer expérimentalement des fibres dont les tubules transversaux sont sélectivement fragmentés : bien que la membrane puisse propager un potentiel d'action, la fibre ne se contracte plus. L'intégrité des tubules transversaux est donc nécessaire pour que le couplage excitation-contraction soit réalisé (GAGE et EISENBERG, 1967 ; HOWELL, 1969). Le mode de propagation de l'excitation le long des tubules n'est pas encore parfaitement élucidé. Certains auteurs, tels que FALK (1968), ADRIAN, CHANDLER et HODGKIN (1969); ADRIAN, CONSTANTIN et PEACHEY (1969) ont abouti à l'idée d'une propagation électrotonique le long du tubule. FALK, en particulier, calcule la vitesse de propagation électrotonique le long du tubule et montre qu'elle est compatible avec la période de latence pour les fibres rapides. CONSTANTIN (1970) en empoisonnant la fibre à la tétrodotoxine, observe que la contraction est limitée aux couches superficielles des myofibrilles. Il semblerait donc que la propagation le long des tubules se fasse de façon active, comme pour le potentiel d'action (blocage de la perméabilité membranaire au sodium par la tétrodotoxine).

Les fibres dont les tubules ont été rompus ont des propriétés électrophysiologiques de grand intérêt. Elles montrent que les deux tiers environ de la conductance au potassium de la fibre entière résident dans les tubules, mais que la conductance au chlore y est nulle, et que l'on peut

donc leur attribuer les deux potentiels consécutifs suivant le potentiel d'action, potentiel consécutif négatif normal et post-dépolarisation tardive. Par contre, le flux sortant de calcium de la fibre au repos n'est pas modifié par la rupture des tubules, et par conséquent, le siège en est la membrane sarcoplasmique elle-même. Comme nous l'avons vu, la lumière des tubules s'ouvre au milieu extérieur, et de nombreuses substances peuvent donc y pénétrer. Il en est ainsi de l'acide éthylène glycol bis (β-aminoéthyl ether)-N, N'- tétraacétique (E. G. T. A.) qui en moins d'une minute atteint une concentration de 1 mM dans le système tubulaire transverse (ARMSTRONG, BEZANILLA, HOROWICZ). Une fibre unique de grenouille, à 20°C plongée dans une solution pauvre en calcium (moins de 10^{-8}M calcium libre) avec de l'E. G. T. A. continue à se contracter pendant 20 minutes après son immersion dans ce milieu(la tension de la secousse va en diminuant avec le temps de séjour). Ceci tendrait à montrer que le calcium du milieu extérieur, présent à l'état normal dans la lumière des tubules, n'est pas le lien entre la dépolarisation de la membrane du tubule et la libération du calcium dans le sarcoplasme. On aurait, en effet, pu invoquer une entrée de calcium au niveau du tubule faisant suite à la dépolarisation. De plus, les auteurs montrent que la chute de la tension se produit quand le potentiel de repos de la membrane mesuré par microélectrode interne, chute aux environs de -20 mV. Quand le potentiel de membrane est trop bas, la conductance au sodium est inactivée, il n'y a plus de potentiel d'action possible. Ceci met un certain temps à se produire (10 minutes) aussi les auteurs invoquent la grande perméabilité au chlore de la membrane musculaire comparée à celle du nerf, pour maintenir le potentiel d'action en absence de calcium dans le milieu extérieur. Le calcium ne semble donc pas jouer un rôle essentiel dans la propagation du potentiel d'action au niveau de la membrane, ni au niveau des tubules dans le couplage électro-calcique.

II. 1. 2. La libération du calcium dans le sarcoplasme.

RIDGWAY et ASHLEY en 1967, apportèrent la preuve de la libération du calcium dans le sarcoplasme grâce à une protéine, l'aequorine, qui présente une luminescence bleue. Microinjectée dans une fibre de Balane, lors de l'excitation on voit apparaître une émission de luminescence bleue, signant la présence de calcium. Sur la figure 11, on voit que l'emission de lumière suit la dépolarisation membranaire, mais que le pic est de courte durée et que la tension continue encore à croître après la cessation de l'émission lumineuse. L'aequorine fournit une preuve indirecte du rôle

des tubules : dans un bain hypertonique par adjonction de glycérol, et la tension mécanique et l'émission lumineuse décroissent rapidement, ce qui correspond à une interruption de l'excitation. Le retour en milieu normal restaure les propriétés de conduction des tubules.

II. 1. 3. Origine du calcium libéré.

WINEGRAD (1965) a montré qu'au repos le calcium est accumulé dans les citernes du réticulum sarcoplasmique. Lorsque le muscle est fixé en pleine contraction tétanique, le calcium se retrouve dispersé dans le sarcoplasme. Ces mouvements du calcium ont été suivis par autoradiographie au niveau des citernes, des tubules longitudinaux et de la bande A des myofibrilles à l'aide de calcium marqué. Le système des tubules transversaux et sa jonction avec les citernes varie selon les espèces (triades au niveau de la ligne Z chez la grenouille, diades des Invertébrés). Ces citernes sont le lieu d'accumulation principale du calcium par le réticulum (COSTANTIN, FRANZINI-ARMSTRONG et PODOLSKY, 1965), (HASSELBACH, 1964). CARVALHO et LEO (1967) ont estimé que la concentration en calcium dans les citernes serait de l'ordre de la millimole par litre, soit 10^5 fois supérieure à celle du sarcoplasme.

La structure anatomique formant la triade, semble donc bien être le siège anatomique du couplage électro-calcique.

II. 1. 4. La jonction triadique et le mécanisme du couplage électro-calcique.

GILLIS (1972), voir la figure 12, rappelle l'ultrastructure détaillée de l'apposition entre les citernes et le tubule (voir KELLY, 1969 ; FRANZINI-ARMSTRONG, 1970, 1971 et voir figure 5a et b). Il rejette l'hypothèse d'un fonctionnement pour cette structure du type des synapses électriques (tight-jonction). Il propose pour la libération du calcium par les citernes, un mécanisme autoentretenu déclenché par la présence de calcium dans le liquide sarcoplasmique de l'espace intertriadique. Mais ce calcium, inducteur de la libération du calcium par le réticulum, n'aurait pas comme origine une entrée de calcium du milieu extérieur via les tubules comme on pourrait le supposer (voir ARMSTRONG, BEZANILLA, HOROWICZ, 1972). ENDO, TANAKA et OGAWA (1970) en trouvent l'origine dans le calcium libre du sarcoplasme dont la concentration joue un rôle sur la libération du calcium réticulaire, donnant lieu à un processus régénéra-

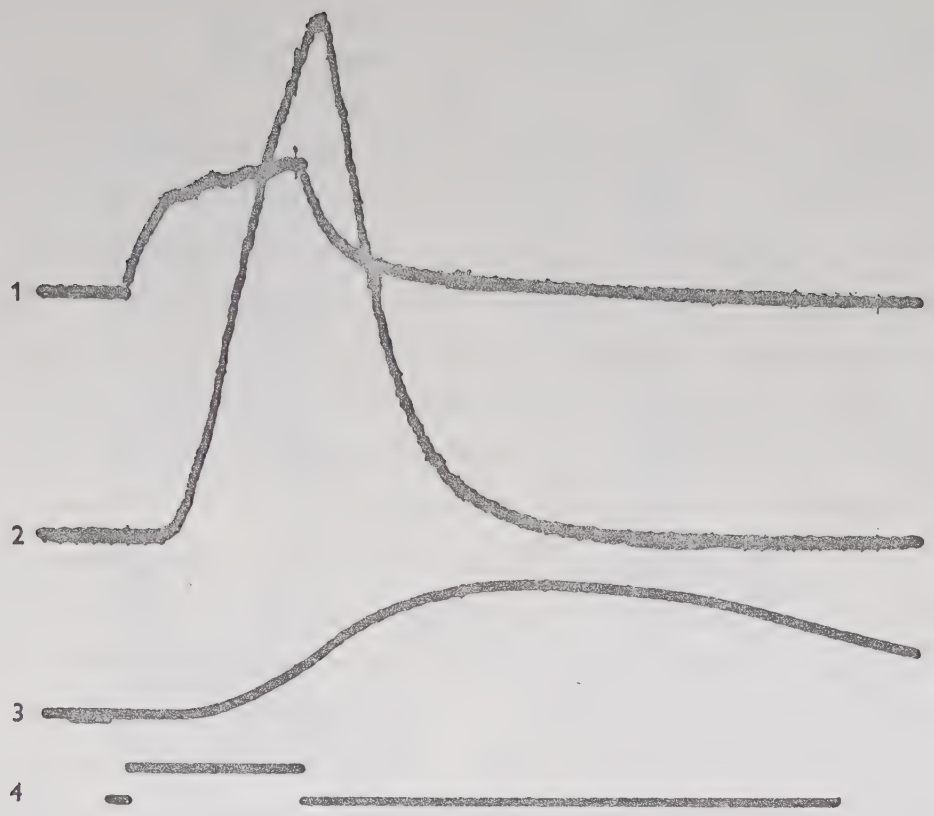


Figure 11 - Fibre musculaire unique de Balane (ASHLEY et RIDGWAY, 1970).

Résultat de l'action d'une seule impulsion dépolarisante sur la membrane d'une fibre unique de Balane chargée d'aequorine. On voit la réponse membranaire (courbe 1), l'émission lumineuse signalant la présence du calcium (courbe 2) et la tension (courbe 3).

tif. Le mécanisme à l'origine de ce calcium libre activateur est encore inconnu, mais on ne peut éliminer à priori la possibilité d'une entrée de calcium au moment de l'excitation. En effet, dans des conditions où la dépolarisation membranaire est produite par augmentation de la concentration en potassium du milieu extérieur, FRANK (1962), EDWARDS et LORKOVIC (1967) ont montré qu'en absence de calcium dans le milieu extérieur la contracture est abolie et qu'elle peut être restituée en substituant un certain nombre de cations divalents, ceci chez la Grenouille et chez la fibre unique de Balane. L'abolition de la réponse mécanique dans un milieu dépourvu de calcium est liée à une abolition du potentiel d'action faisant suite à l'augmentation du potentiel de repos. Les modifications apportées à la réponse mécanique peuvent être attribuées aux modifications de la réponse membranaire à l'excitation consécutive à la perte des ions calcium fixés sur la membrane (EDMAN et GRIEVE, 1963).

D'autre part, BUSS et FRANK (1969) indiquent que des lombricaux de Rat, placés dans un milieu sans calcium, ne répondent plus à une augmentation de concentration au potassium, après 20 à 40 minutes (abolition de la contracture) mais se contracturent encore après adjonction de caféine pendant 2 heures au moins. Nous verrons par ailleurs que la caféine mobilise, non seulement le calcium lié au réticulum, mais encore libère du calcium lié à d'autres structures. D'autres travaux, utilisant le calcium marqué, montrent des entrées de calcium à partir du milieu extérieur à des concentrations en potassium inférieures à celle nécessaire pour provoquer une contracture (NOVOTNY, VISKOCIL, 1966 ; VOS et FRANK, 1972) mais où on note déjà un certain degré d'activation.

En conclusion, on peut attribuer au calcium présent (quelle que soit sa voie d'introduction) dans le liquide de l'espace intertriadique le rôle initiateur du mécanisme de libération du calcium des citernes. Cette libération est un phénomène limité dans le temps : en effet, une fibre maintenue dans un milieu riche en potassium, se contracture, puis se relâche alors que la dépolarisation est maintenue (LULLMANN et REIS, 1967). Il existe un mécanisme d'arrêt encore inconnu. Des hypothèses ont été avancées : l'intervention du magnésium sarcoplasmique, mais cette possibilité est contestée par certains expérimentateurs . EDMAN, (1960) frappé de voir la concentration intercellulaire de zinc voisine de celle du calcium (0, 6mM) avait attribué un rôle possible à cet ion dans le relâchement de la contraction. Il serait intéressant de tester cette hypothèse à l'aide des techniques modernes (autoradiographie, synérèse des myofibrilles isolées,

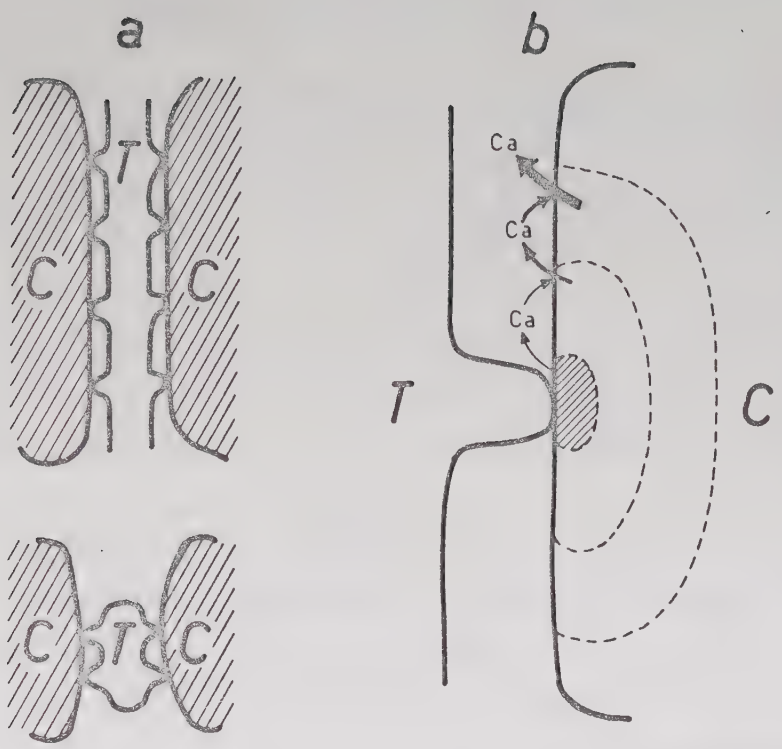


Figure 12 - Mode de fonctionnement de la triade proposé par GILLIS (1972).

a - Ultrastructure de la fonction triadique schématisée d'après les travaux de FRANZINI ARMSTRONG (1970).

b - Mécanisme hypothétique de la libération du calcium à partir des citernes. T : tubule , C : citerne. La dépolarisation propagée le long des tubules se communique à la membrane des citernes au point de contact entre les deux structures et y provoque une libération localisée de Ca. Celle-ci augmente la concentration du Ca^{++} dans l'espace intertriadique, ce qui, à son tour, favorise la libération de Ca des zones contiguës au contact citerne-tubule.

fibre pelée).

II-2. Le couplage calcium-contraction.

II-2.1. Où agit le calcium ainsi libéré ?

A. F. HUXLEY et NIEDERGERKE (1954) et H. HUXLEY et HANSON (1954) proposèrent le modèle dit "des filaments glissants" pour expliquer la contraction musculaire. Les filaments d'actine et de myosine, composant les myofibrilles, peuvent glisser l'un par rapport à l'autre, provoquant le raccourcissement, grâce aux interactions entre la myosine et l'actine. Si on utilise une préparation de myofibrilles isolées, elles peuvent se contracter en utilisant de l'ATP. L'activité ATPasique myofibrillaire est dirigée avec précision par de petites quantités de calcium.

La figure 13a représente une courbe typique d'activation de l'activité ATPasique en fonction de la concentration en calcium. Cette courbe, en forme de S, montre qu'une relation non linéaire relie la concentration en calcium et l'activité ATPasique et suggère, pour que l'activation du système soit totale, que plus d'un ion calcium est nécessaire, in vitro au moins, expériences de WEBER, HERZ et REISS, 1969. Une courbe en S semblable a été obtenue par PODOLSKY et HELLAM, courbe reliant la force développée par les myofibrilles (isolées et attachées à un dynamomètre) et la concentration en calcium : figure 13b. Par conséquent, l'activité ATPasique des fibrilles semble liée à leur force, l'ensemble étant sous l'action du calcium : l'écart des concentrations en calcium de 10^{-7}, 2-3 10^{-6} correspond aux valeurs obtenues sur fibre vivante en utilisant l'aequorine. D'autre part, l'actomyosine naturelle, extraite du muscle, possède une sensibilité au calcium comparable à celle des myofibrilles (EBASHI, 1963).

L'analyse critique par GILLIS (1972) de l'ensemble des expérimentations sur myofibrilles, l'amène à conclure que l'activation d'un site générateur de tension nécessiterait l'intervention de deux atomes de calcium (ASHLEY et RIDGWAY, 1970) et que ce petit nombre ne permettrait pas de nombreux paliers dans l'activation du site, d'où un mécanisme "on-off" selon l'hypothèse de PODOLSKY et TEICHOLZ (1970).

Nous venons de parler de sites générateurs de tension : d'après les travaux de A. F. HUXLEY et de ses collaborateurs, et selon l'hypothèse des filaments glissants, les sites générateurs de tension sont les

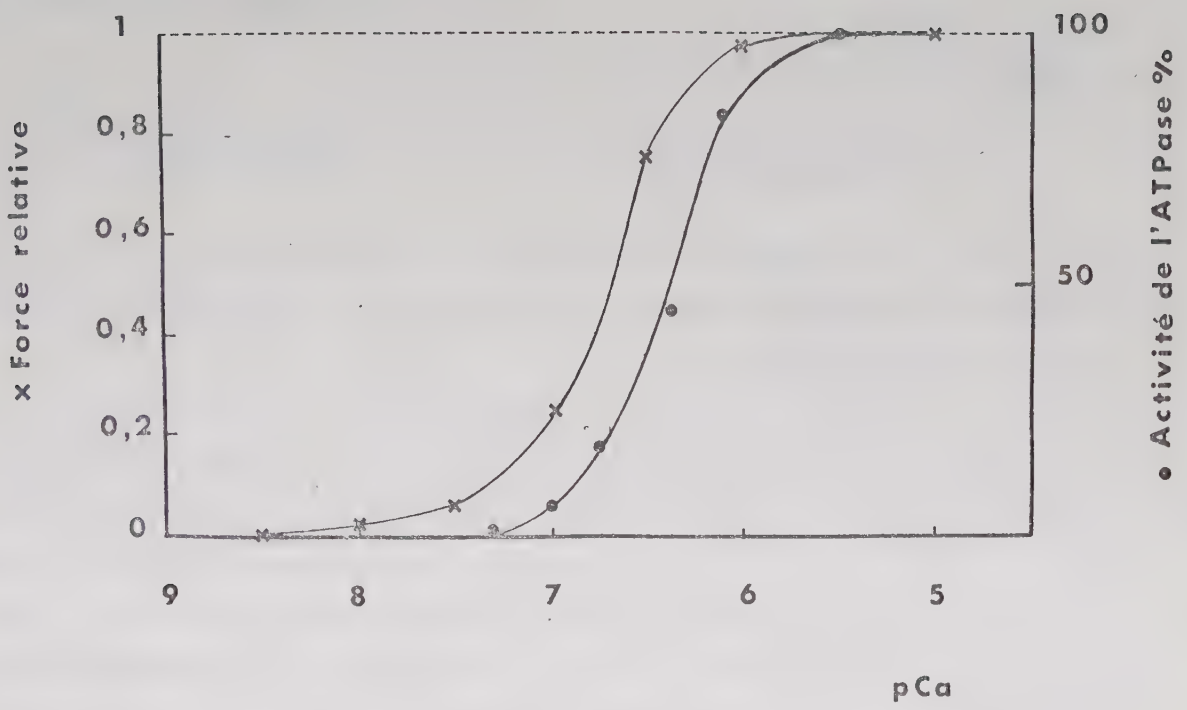


Figure 13 - Réponse mécanique des myofibrilles en fonction de la concentration en calcium. Les myofibrilles sont isolées du muscle de Grenouille (HELLAM et PODOLSKY, 1969).

Activité de l'ATPase des myofibrilles en fonction de la concentration en calcium. Les myofibrilles sont isolées du muscle de Balane (HASSELBACH, 1966).

"ponts", c'est-à-dire les lieux d'interaction entre la myosine des filaments épais, et l'actine des filaments fins. HELLAM et PODOLSKY (1969) expérimentant sur une fibre sans sarcolemme, ont conclu que l'affinité des sites récepteurs de calcium était uniforme tout le long du myofilament, d'où une action "on-off" du calcium. Une telle action du calcium est très satisfaisante pour l'esprit. Mais certains résultats (en particulier ceux de JULIAN, 1971) semblent la contredire.

II-2.2. Où le calcium se fixe-t-il sur les myofibrilles ?

La figure 13 nous a montré le lien existant entre la force produite par les myofibrilles, la concentration en calcium et l'activité ATPasique des myofibrilles.

Si l'on prépare de l'actine et de la myosine purifiée, et si l'on reconstitue le complexe actomyosine, il ne présente qu'une faible sensibilité au calcium. Par contre, l'actomyosine naturelle, extraite du muscle, possède une sensibilité au calcium comparable à celle des myofibrilles intactes. En 1963, EBASHI redonne la sensibilité au calcium à l'actomyosine en ajoutant un extrait protéinique du muscle. Cet extrait a les mêmes propriétés que la tropomyosine extraite par BAILEY en 1948. Mais l'extrait de BAILEY seul ne suffisait pas et dans la préparation d'EBASHI se trouvait une autre protéine appelée "troponine". Ces deux protéines, tropomyosine et troponine sont étroitement impliquées dans la sensibilité au calcium des myofibrilles. La trypsine détruit sélectivement la tropinine des myofibrilles et la sensibilité au calcium disparaît immédiatement. Elle est restaurée par addition du mélange d'EBASHI (tropomyosine et troponine). Ces deux protéines forment avec l'actine une association où la tropomyosine est indispensable à l'association des deux autres protéines (EBASHI), d'où la composition du filament d'actine qui en a été déduite (voir figure 3, chapitre I). Le calcium se fixant sur la troponine et l'activité ATPasique apparaissant, ceci suggère que le complexe tropomyosine, troponine inhibe l'activité ATPasique de la myosine au repos. Le nombre d'ions calcium nécessaire à l'activation, nous l'avons vu à propos des expériences sur l'ATPase, doit être de 2. Or la troponine possède deux points de fixation du calcium, avec des affinités élevées (EBASHI, ENDO, OHTSUKI, 1969).

Ces expériences ont été réalisées sur des myofibrilles isolées, mais WINEGRAD (1970) a cherché à mettre en évidence la localisation du calcium intracellulaire pendant la contraction. Une fibre striée de Gre-

nouille, imprégnée de 45Ca est rapidement fixée par refroidissement brutal pendant le plateau d'un tétanos. WINEGRAD observe que tout le 45Ca myofibrillaire est localisé dans la région du sarcomère occupée par les filaments d'actine, la quantité de 45Ca trouvée étant d'ailleurs fonction de la tension développée :

Un schéma simple peut donc rendre compte de l'action du calcium : il se fixe sur la troponine, l'inhibe, levant ainsi l'inhibition que cette dernière faisait peser sur le complexe actomyosine.

Un certain nombre de faits expérimentaux peuvent obscurcir ce beau schéma (voir GILLIS, 1972). Le plus important est la possibilité pour la myosine d'être activée directement par le calcium, ceci serait le cas de certains muscles de Mollusques. D'ailleurs, DAVIES (1963) avait émis l'hypothèse que le calcium était le lien nécessaire entre la tête de myosine et la molécule d'actine, pour former un pont, d'où génération de tension et glissement de filaments.

Cette théorie est en contradiction avec le dernier modèle de A. F. HUXLEY et la structure détaillée des filaments donnée par H. E. HUXLEY.

II-3. Le relâchement de la contraction.

Nous avons vu que l'activation des myofibrilles résultait de la fixation du calcium libéré par l'excitation dans le sarcoplasme. Pour qu'il y ait désactivation, il est nécessaire que le calcium se détache des sites où il est fixé : pour cela le taux de calcium libre du sarcoplasme doit être abaissé à 10^{-7}, 10^{-8} environ. In vitro, ces concentrations sont aisément atteintes par l'adjonction d'un chélateur (EGTA). Après les expériences de HEILBRUNN et WIERCENSKI (1947) et de NIEDERGERKE (1955) qui démontrèrent que le calcium injecté dans les fibres musculaires de Grenouille induisait la contraction, des expériences plus quantitatives ont été réalisées dans de grandes fibres musculaires de Crustacés (MAID) où PORTZEHL, CALDWELL et RUEGG (1964), injectèrent une solution de calcium. Quand la concentration en calcium était supérieure à $0,3 \times 10^{-6}$M, ils observèrent une contraction. Cette valeur nécessaire à l'activation de l'ATPase et l'apparition de la tension des myofibrilles correspond à celles de la figure 13.

Dans d'autres expériences, PORTZEHL, CALDWELL et

RUEGG injectèrent de l'EGTA pour déterminer les variations de la concentration en calcium, liée à la contraction. L'injection d'EGTA diminue initialement la teneur en calcium libre et le calcium lié est rapidement libéré par le réticulum sarcoplasmique pour maintenir la teneur en calcium ionisé à environ 1×10^{-6}M. Quand la concentration interne en EGTA est de 2 à 4m, 1 à 2M de calcium sont théoriquement libérées. Lors d'une excitation, la faible quantité de calcium restant encore dans le réticulum est libérée et réagit avec le tampon Ca-EGTA en donnant lieu à une concentration juste suffisante pour produire l'activation. La contraction est brève car le réticulum élimine rapidement le calcium du sarcoplasme et rétablit le taux normal du repos.

L'estimation des concentrations en calcium par injection d'EGTA indique que le réticulum maintient le calcium dans des limites bien définies au repos. HASSELBACH (1964) a montré qu'il existe un véritable transport de calcium vers l'intérieur des vésicules du réticulum, dont la concentration pourrait être supérieure de 1 000 à 3 000 fois celle du milieu. L'énergie est fournie par l'ATP grâce à l'activité ATPasique des vésicules, qui est couplée au transport du calcium. En absence de calcium cette activité décroît considérablement (30 fois moindre WEBER, 1966) : d'où son appellation de "pompe à calcium".

C'est cette capacité des vésicules du réticulum à pomper le calcium qui en fait le facteur de relâchement du muscle. En effet, des myofibrilles isolées peuvent se contracter dans un milieu approprié et une addition de vésicules dans ce milieu amène leur relâchement par appauvrissement du milieu en calcium (WEBER). Ce relâchement peut être bloqué si on ajoute de la caféine par exemple, qui inhibe l'accumulation de calcium par les vésicules (HASSELBACH et MAKINOSE, 1963). Nous reviendrons plus loin sur cet effet important de la caféine.

Cette séquestration du calcium par le réticulum doit être suffisamment rapide pour rendre compte de la vitesse de relâchement des myofibrilles. La distance de diffusion des ions calcium est d'environ 1 μm et 1 ms est nécessaire pour qu'une distribution uniforme des ions soit obtenue en utilisant une constante de diffusion normale pour les ions calcium (EBASHI et ENDO, 1968).

Les expériences d'HASSELBACH ont montré qu'en présence d'oxalate, on observait des précipités denses d'oxalate de calcium dans la

lumière des vésicules, où la concentration en calcium serait donc très élevée. CARVALHO et LEO (1967) ont divisé en deux facteurs le calcium fixé par les vésicules :

-une première partie (90% du calcium accumulé) serait fixée sur des sites anioniques,

-la seconde dans la lumière des vésicules à une concentration de 1m à 2mM, voisine de celle du liquide extra-cellulaire.

COSTANTIN, en utilisant l'autoradiographie montra que dans un muscle intact chargé de 45Ca, on retrouvait le calcium marqué dans les régions du réticulum longitudinal, la majeure partie se trouvant dans la citerne latérale de la triade.

GILLIS (1972) émet l'hypothèse que, dans le cas des fibres musculaires de Mammifères (fibres rouges et intermédiaires où le réticulum est peu développé), les mitochondries joueraient un rôle dans la séquestration immédiate de calcium, qu'elles transfèreraient au repos au réticulum. Une autre possibilité envisagée est que les mitochondries se répartissent le calcium avec le réticulum et fonctionnent en parallèle à la fois pendant l'excitation (libération de calcium) et pendant le relâchement (séquestration du calcium). Le schéma de la figure 14 (d'après GILLIS, 1972) résume les mouvements de calcium pendant la contraction et le relâchement des fibres rouges et intermédiaires de Mammifères.

Rôle du magnésium et autres facteurs liés au relâchement.

EBASHI et ENDO (1968), GILLIS (1972) citent parmi les agents modifiant l'interaction entre la myosine et l'actine : la force ionique, la concentration en ATP, en Mg, la température, le pH etc... Le magnésium lié à l'ATP sous forme Mg ATP, joue un rôle important dans le cycle contraction-relaxation des myofibrilles in-vitro : aux faibles concentrations de Mg ATP la contraction est activée, alors que le relâchement se produit si on élève la concentration en Mg ATP. Selon la concentration en calcium du milieu, les quantités efficaces de Mg ATP sont très différentes : la concentration en Mg ATP pour laquelle apparaît le relâchement est 1 000 fois plus élevée en présence de calcium (voir GILLIS, 1972).

L'autre fraction du magnésium est sous forme ionisée libre. Sous cette forme il s'oppose à la fixation du calcium sur les sites myofi-

brillaires. Le magnésium peut déplacer le calcium fixé sur les myofibrilles, et dans ce cas il se fixe à sa place (WEBER et al.). Cet antagonisme pourrait jouer un rôle dans le contrôle de la contraction. En expérimentant sur fibres glycérinées, on a pu montrer que d'autres substances pouvaient amener le relâchement des myofibrilles:

-le salyrgan (agent mercurique) dont la relaxation est levée par la cystéine (PORTZEHL ; EDMAN, 1960),

-quelques métaux lourds tel le cadmium (WATANABE, 1957),

-l'acétone et certains solvants organiques (EBASHI et ENDO, 1968 ; WATANABE et al.).

Ces corps agiraient en accroissant l'effet dissociant de l'ATP sur l'acto-myosine.

Il est évident que ces diverses substances actives sur des préparations aussi particulières que les fibres glycérinnées ne peuvent que donner une indication sur les mécanismes possibles de la relaxation : la mise en valeur du rôle important de l'ATP.

III - Le rôle de l'ATP dans le cycle contraction-relaxation.

MARECHAL (1972) a résumé dans le schéma suivant l'essentiel des connaissances actuelles concernant le rôle de l'ATP et la fourniture de l'énergie pendant la contraction, la relaxation, la restauration suivant l'activité. Dans la partie gauche de la figure 15, la réaction entre la myosine et l'actine est liée à la présence du calcium libéré par le potentiel d'action 'excitation) à partir du réticulum sarcoplasmique. L'hydrolyse de l'ATP est catalysée par la présence de l'actomyosine (ATPase de l'actomyosine . L'énergie libérée est d'une part transformée en énergie mécanique, par couplage de la réaction avec la déformation mécanique des protéines contractiles, c'est à dire, dans le cycle de formation du pont,la rupture de la liaison actine-myosine nécessite de l'énergie fournie par l'hydrolyse de l'ATP, puis glissement possible des filaments, et formation du pont suivant, ceci tant que des ions calcium sont présents en quantité suffisante dans le sarcoplasme. D'autre part, l'hydrolyse de l'ATP est couplée à une'pompe moléculaire" qui transfère le calcium ionisé libre du sarcoplasme vers les citernes du réticulum sarcoplasmique.

Comme on peut le voir, le repompage du calcium libéré par l'excitation survient dans un très court laps de temps après le début de la

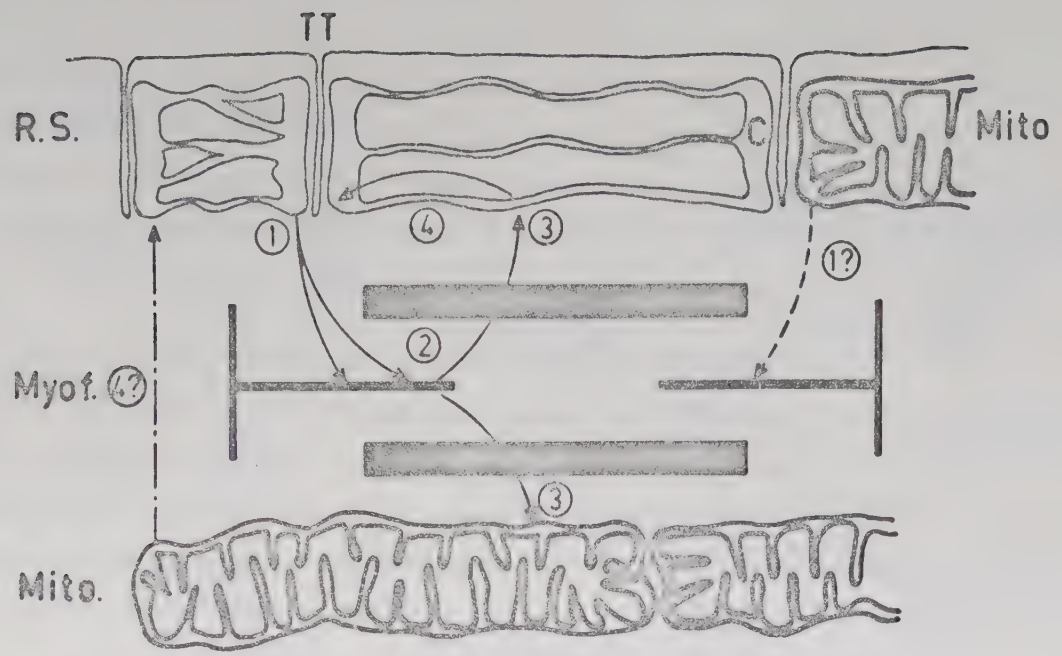


Figure 14 - Schéma des mouvements de Ca durant le cycle de contraction-relâchement des fibres rouges et intermédiaires de Mammifère (GILLIS, 1972).

1 - L'activation propagée en profondeur par les tubules transverses provoque la libération de Ca, à partir des citernes terminales du réticulum sarcoplasmique et, peut-être, des mitochondries(1?).

2 - Le Ca libéré diffuse dans le sarcoplasme, se fixe sur la troponine des filaments d'actine, et lorsqu'il atteint la zone de recouvrement déclenche la contraction.

3 - La concentration plasmatique en Ca^{++} s'abaisse par fixation du Ca sur les mitochondries et dans le réticulum longitudinal, agissant en synergie. L'élévation du pCa entraîne la dissociation du complexe Ca-myofibrilles et le relâchement apparait.

4 - Durant la période de recouvrement post-contractile, le Ca est à nouveau accumulé dans les citernes terminales, à partir du réticulum longitudinal, et, peut-être aussi, des mitochondries (4?).

contraction puisqu'il est lié à la réaction d'hydrolyse de l'ATP, nécessaire au développement de la contraction. Le mécanisme assure le relâchement du muscle. Pendant le tétanos, les potentiels d'action successifs viennent restaurer le taux de calcium ionisé par décharge des citernes et la contraction se maintient à un niveau stable. Par contre, lors d'une secousse, le potentiel d'action étant unique, le taux de calcium libéré baisse rapidement ce qui rend compte de la forme du myogramme.

Sur la partie droite de la figure 15, sont illustrées les principales réactions menant à la resynthèse de l'ATP, réactions de restauration. La synthèse de l'ATP à partir de la phosphorylcréatinine(PC)est la plus connue. Cette réaction est importante car lors d'un tétanos l'ATP est resynthétisé pendant le plateau de la contraction tétanique au dépens de la phosphorylcréatinine. Cette réaction est inhibée par le I-fluoro-2,4-dinitrobenzène, possibilité largement utilisée par les expérimentateurs.

Dans ce schéma la position clé de l'ATP est parfaitement évidente.

IV - Propriétés mécaniques du muscle et modèles de la contraction musculaire.

IV-1. Moyens d'enregistrement de la contraction. Théorie classique de HILL.

La mesure de la tension mécanique développée pendant la contraction musculaire fait appel à des techniques différentes que nous rappellerons brièvement.

1)-Enregistrement isotonique : le muscle est amené à soulever des charges de poids différent. On enregistre la vitesse du raccourcissement de l'extrémité chargée. Pour éviter au muscle au repos d'être allongé par la charge, la contraction commence toujours à la même longueur (longueur normale in-situ) : c'est la contraction isotonique avec "after-load".

2)-Enregistrement à l'ergomètre du diagramme tension-longueur pendant une contraction à vitesse constante (courbe indicatrice du travail).

3)-Enregistrement isométrique :on maintient constante la longueur du muscle et l'on suit les variations de la tension pendant la durée de la me-

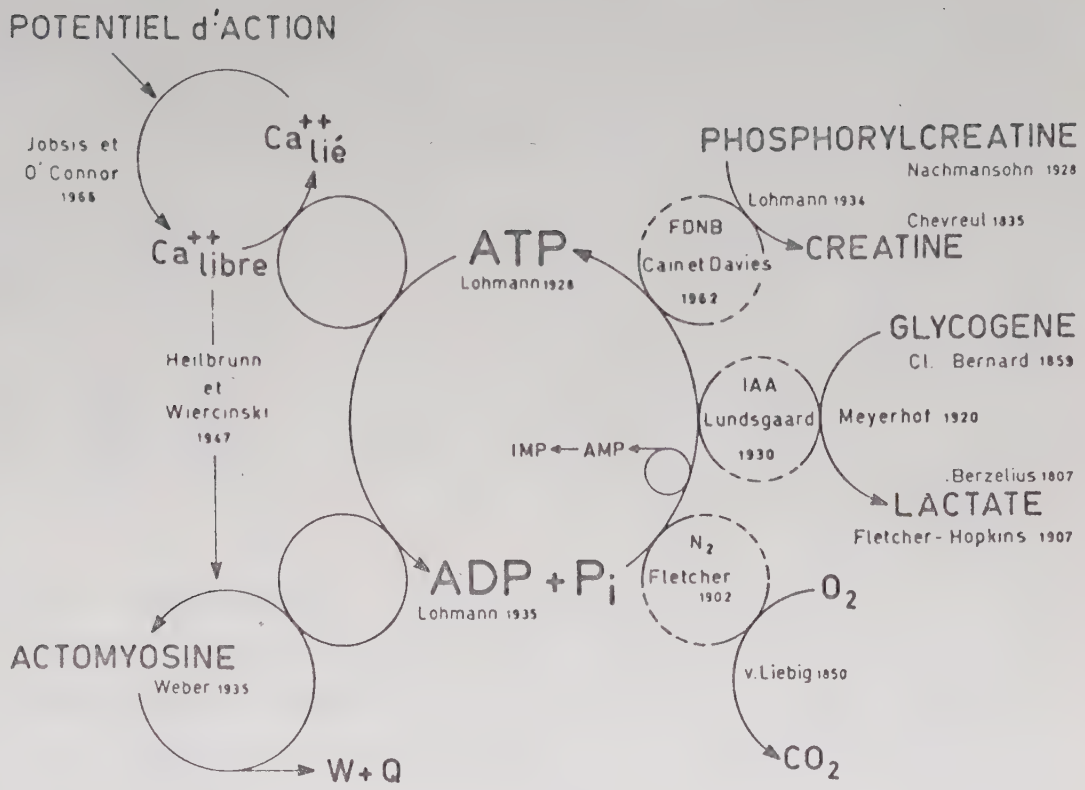


Figure 15 - La Roue de l'ATP (MARECHAL, 1972).

La "Roue" de l'ATP illustre la position centrale de l'ATP dans le métabolisme musculaire. A droite sont schématisées les réactions couplées à une synthèse d'ATP ; à gauche celles qui puisent leur énergie à partir du couple ATP-ADP.

sure.

A l'aide de ces trois méthodes on obtient les courbes caractéristiques du muscle en contraction, relation force-vitesse de raccourcissement, diagramme tension-longueur, et diagramme tension-temps. Au repos, à l'aide de la méthode isotonique, on met en évidence l'élasticité du muscle, en traçant le diagramme tension-extension.

Cette étude des propriétés mécaniques du muscle a conduit HILL (1949) à formuler l'hypothèse suivante : la fibre musculaire est composée d'éléments contractiles et d' éléments élastiques en série. La tension ne peut se manifester à l'extérieur que dans la mesure où les éléments élastiques en série sont étirés lors du raccourcissement de l'élément contractile. De là HILL tira le concept d'état actif dont nous avons déjà parlé dans le premier paragraphe.

En contraction isotonique, la relation entre la charge et la vitesse initiale du raccourcissement est la relation force-vitesse de HILL qui suffit à décrire entièrement l'état d'activité du mécanisme contractile en régime stationnaire. La vitesse atteint son maximum pour une charge nulle : V_o . Quand la charge égale la tension isométrique P_o la vitesse devient nulle.

La relation s'écrit : $(P + a)(V + b) = (P_o + a)\, b = \text{Constante}$

Elle décrit une hyperbole équilatère (voir figure 16).
Les constantes a et b ont été choisies de sorte que l'équation rende le mieux compte des relations expérimentales observées entre P et V. De plus, l'équation de HILL rend aussi compte des phénomènes de production de chaleur liés à la contraction : a est alors la quantité de chaleur de raccourcissement par centimètre. On voit que (P + a) V est la vitesse à laquelle le muscle libère de l'énergie pendant le raccourcissement, travail et chaleur réunis. Dans l'équation, a a la dimension d'une force de telle sorte que $\frac{a}{Po}$ est un nombre sans dimension, dont la valeur, chez la grenouille, est environ 0, 25. CLOSE (1969) a trouvé des valeurs identiques pour les muscles lent et rapide de Rat, de même RITCHIE (1954) pour le diaphragme de Rat.

La constante b a les dimensions d'une vitesse. Elle dépend de la longueur du muscle, elle varie avec le type de muscle. Elle est d'autre part augmentée lorsqu'on élève la température, elle a un coefficient de

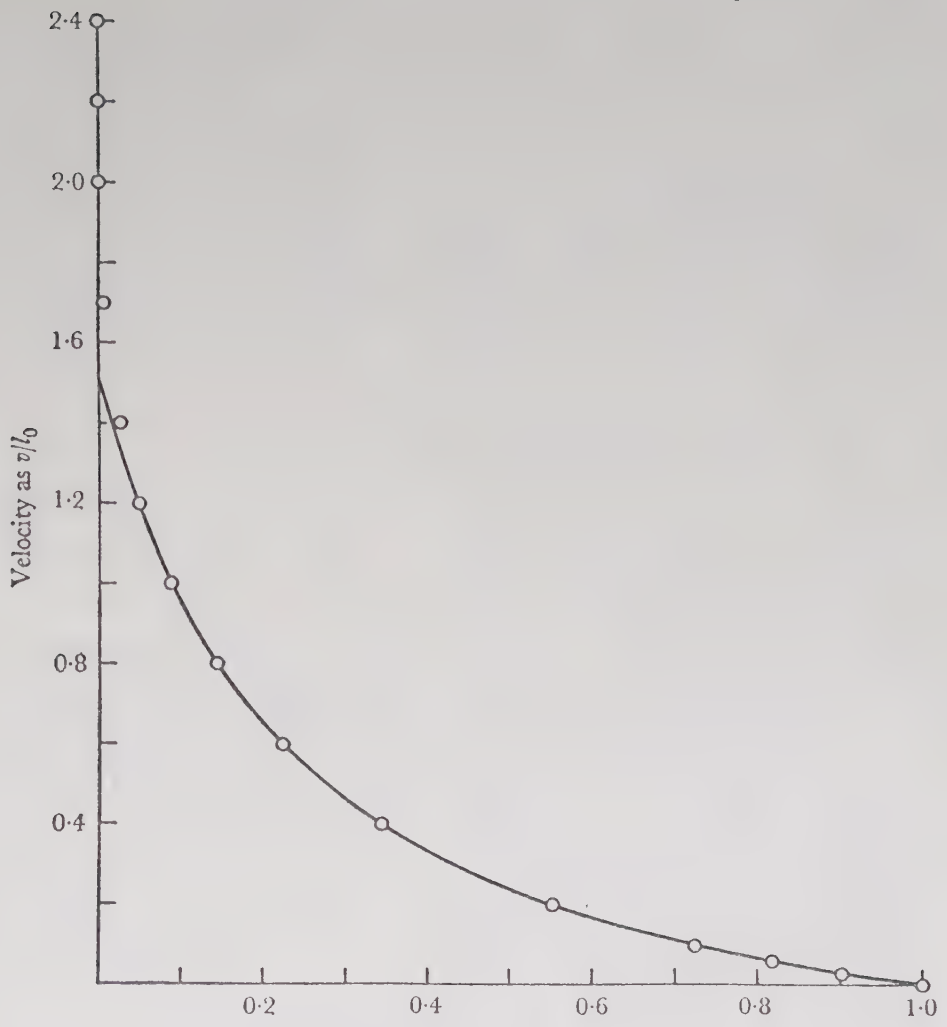


Figure 16 - D'après HILL, 1970).

La relation force-vitesse, à partir d'expériences où la vitesse a été prise comme variable indépendante. En abscisses la force relative $\frac{P}{Po}$, en ordonnée la vitesse relative $\frac{v}{lo}$. Les cercles représentent 24 mesures à partir de 3 expériences faites sur couturier de Grenouille à 0°C. La droite est tracée à partir de l'équation :

$$v = \frac{b\,(Po - P)}{(P + a)} \qquad \text{où} \quad \frac{a}{Po} = 0,26 \quad \text{et} \quad \frac{b}{lo} = 0,42$$

température de 2 à 3.

Nous avons brièvement décrit les principales propriétés de l'équation caractéristique de HILL, qui reste la description quantitative de base de la contraction musculaire. Nous ne parlerons pas de l'énergétique de la contraction, elle est en dehors de notre sujet et nous n'avons utilisé aucune des techniques qui lui sont propres. Une étude détaillée, en parallèle, des phénomènes énergétiques et mécaniques de la contraction du muscle strié est traitée dans AUBERT (thèse, 1956) et A. V. HILL(1970).

IV-2. Les éléments élastiques en série.

Pendant une contraction isométrique, les éléments contractiles étirent les éléments élastiques en série. Quand le muscle a atteint son degré d'activité maximum pendant le plateau d'un tétanos, les éléments élastiques en série sont totalement étirés par les éléments contractiles. La forme du myogramme isométrique est entièrement déterminée par la relation force-vitesse du composant contractile et la relation tension-extension des éléments élastiques en série. JEWELL et WILKIE (1958) ont étudié les éléments mécaniques du muscle strié de Grenouille à 0°C. Ils ont obtenu expérimentalement les courbes représentatives tension-extension, qui décrivent les éléments élastiques en série, et en particulier en fonction de la longueur du muscle au départ.

On voit sur la figure 17 que la courbe est peu modifiée lorsque l'on réduit la longueur du muscle au-dessous de la longueur in-situ (lo). Par contre, si un étirement de 13% n'affecte pas la réponse, un étirement de 26% (étirement très important que nous n'avons pas appliqué à nos muscles) modifie profondément la forme de la courbe, particulièrement pour les faibles tensions. C'est d'ailleurs une longueur pour laquelle le muscle au repos présente déjà une réponse très importante à l'étirement. Ces courbes tension-extension sont obtenues par JEWELL et WILKIE, à partir d'expériences de "relâchement bref" pendant une contraction isotonique et isométrique. La courbe tension-extension du muscle couturier de Grenouille à 0°C est linéaire à partir de 0,4 Po environ, et sa pente donne le coefficient de raideur de l'élément élastique en série. Au-dessous de cette valeur, la relation n'est plus linéaire. D'autre part, la pente de la courbe varie avec l'histoire antérieure du muscle : c'est-à-dire une stimulation tétanique précédente entraîne une augmentation de la pente, par exemple pendant la reprise de la tension isométrique après un relâchement bref.

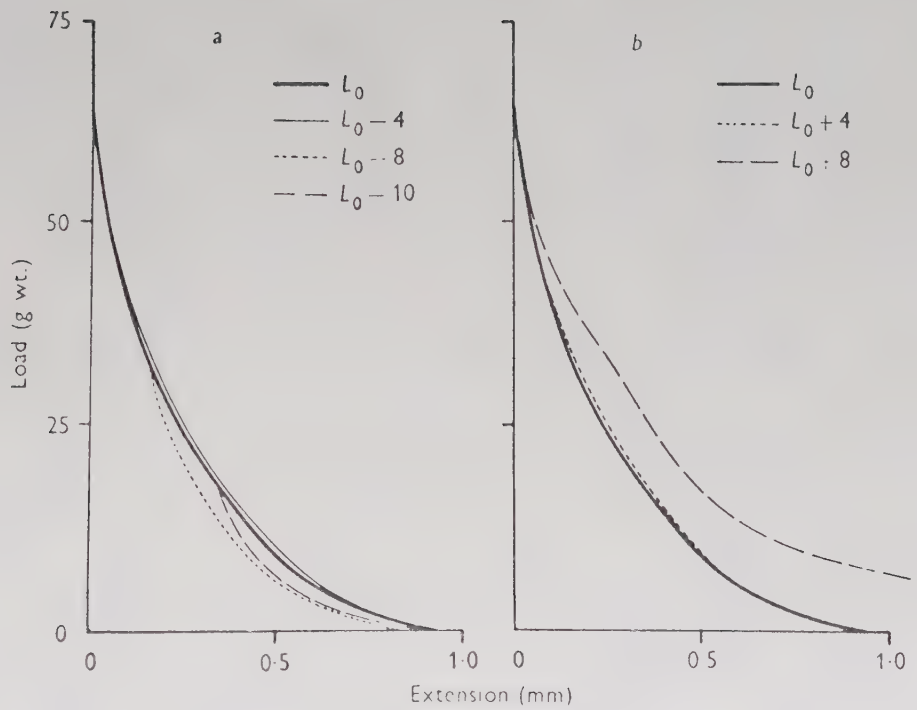


Figure 17 - Les courbes tension-extension du composant élastique en série à différentes longueurs du muscle (JEWELL et WILKIE, 1958).

Muscle couturier de Grenouille à 0°C. lo = 32 mm.

En a : longueur du muscle en-dessous de lo .

En b : longueur du muscle supérieure à lo .

Le muscle répond par une tension de repos croissante à l'extension, variable avec la vitesse d'étirement et présentant une hystérésis. Tous ces faits traduisent la présence d'une élasticité très imparfaite (non hookienne) et ont amené les premiers expérimentateurs à postuler la présence d'un élément de type visqueux en plus de l'élément élastique. LEVIN et WYMAN (1927) proposèrent donc un modèle de muscle figuré en a, dans la figure 18. Les anomalies de comportement du muscle étaient attribuées à des forces de frottement internes proportionnelles à la vitesse (voir annexe visco-élasticité).

Mais un certain nombre de faits expérimentaux firent abandonner la théorie visco-élastique. En particulier HILL chercha à mettre en évidence un dégagement de chaleur attribuable au frottement. Il montra que, si on permet au muscle de se raccourcir pendant l'excitation, il apparaît en supplément de la chaleur isométrique, le travail mécanique plus une quantité de chaleur proportionnelle au raccourcissement. Cette dernière n'est toutefois pas proportionnelle à la vitesse, mais à l'écart entre la charge isométrique (Po) et la charge soulevée (P). D'autre part, si on allonge un muscle en contraction, il apparaît une réduction de la dépense de chaleur proportionnelle à l'allongement (ABBOTT et AUBERT, 1951). Il ne peut donc y avoir de frottement sans apparition de chaleur. Ainsi, à la suite de HILL, la théorie visco-élastique fut abandonnée. Mais ce problème est soulevé périodiquement par certains expérimentateurs, comme nous le verrons.

D'autres schémas mécaniques furent alors proposés pour rendre compte des propriétés mécaniques du muscle. Le modèle b a été proposé par HILL, le modèle c est celui d'AUBERT (voir figure 18). Ils se caractérisent par un élément contractile en série avec un élément élastique, un troisième élément élastique est en parallèle soit avec l'ensemble, soit avec seulement l'élément contractile. Cet élément élastique en parallèle rend compte, entre autre, de l'augmentation de tension du muscle au repos lorsqu'il est étiré au-delà de la longueur in situ. Dans le modèle c de la figure 18, une part de la tension de repos est attribuée à l'élément contractile, et une part importante de l'élasticité en série échappe à l'action de soutien des éléments en parallèle.

Un essai de localisation anatomique de ces diverses structures a tenté de nombreux auteurs. JEWELL et WILKIE suggèrent que la majeure partie de l'élasticité en série réside dans les tendons. Ils s'appuient sur le fait que les variations de longueur, de température, de mesure à des inter-

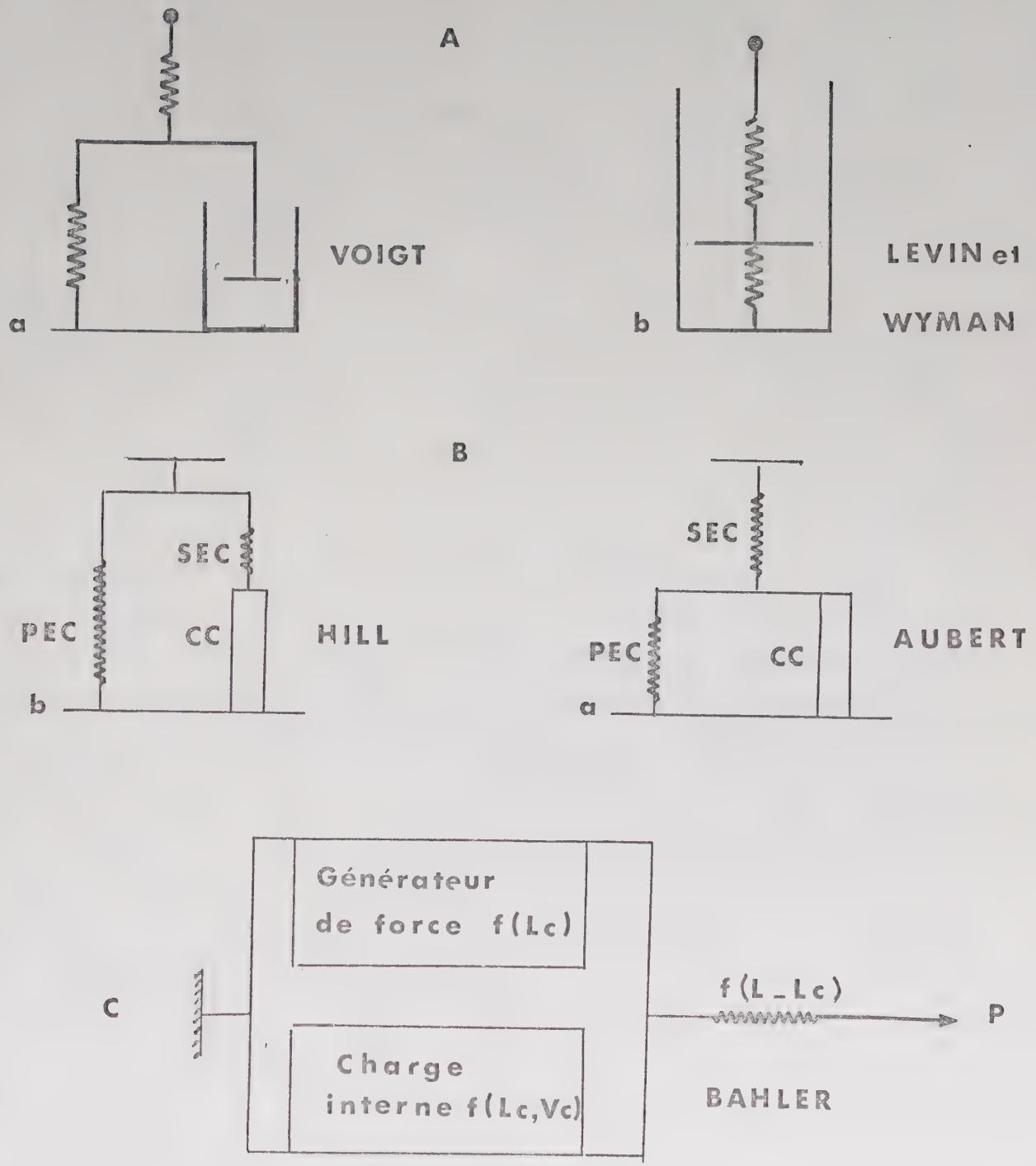


Figure 18 - A - Modèles visco-élastiques.

B - C.C.: composant contractile
SEC.: élément élastique en série
PEC.: élément élastique en parallèle

C - Modèle proposé par BAHLER(1968) pour le muscle de Mammifère.

valles variés après le stimulus, ne modifient pas de façon notable l'aspect des courbes tension-extension.de l'élément élastique en série. Mais des observations au microscope pendant la contraction, montrent des déplacements l'un par rapport à l'autre des divers segments du muscle, d'où la conclusion qu'une fraction de l'élasticité est répartie le long du muscle tandis qu'une moitié (pour le couturier) réside dans les tendons. En conséquence, les courbes représentatives tension-extension des éléments élastiques en série sont différentes selon les muscles étudiés (voir la figure 19).

Dans la figure 19 nous voyons figurer la courbe correspondant au gracilis anticus du Rat étudié par BAHLER (1967). Ce même auteur, en 1968 a proposé un modèle de comportement du gracilis anticus de Rat (étudié à 18°C). Ce modèle a ceci de particulier que l'élément contractile est en fait le siège d'une certaine viscosité : la courbe tension-longueur de l'élément contractile est représenté par un générateur de force dépendant de la longueur, brimé par un amortisseur dépendant de la longueur, et que BAHLER assimile à une charge interne. Nous reparlerons de ce travail de BAHLER à propos des tentatives de modélisation du muscle. Récemment, MASHIMA, AKAZAWA, KUSHIMA et FUJII (1972) étudiant les courbes de vitesse de raccourcissement en fonction de la charge de petits lambeaux (500 - 800 μ) de fibres rapides de semi-tendineux de Grenouille à 10°C, aboutissent à la conclusion que ces courbes, à la longueur in situ (lo), suivent la relation hyperbolique de HILL, à quelque tension que soit le muscle, celui-ci étant partiellement actif. Pour obtenir cette activation partielle, les auteurs élèvent la concentration en potassium du milieu de manière à abolir le potentiel d'action, et la membrane est uniformément dépolarisée par application d'un champ alternatif entre les électrodes : d'où activation partielle selon la valeur du champ. Dans ces conditions ils voient apparaître une force F croissant linéairement avec la vitesse quand la force contractile est augmentée : ceci est valable pour des longueurs comprises entre 0,8 et 1,2 lo. D'autre part, la valeur de cette force est 1,4 fois plus grande pour les allongements que pour les raccourcissements. AUBERT (1956) étudiant expérimentalement par mesure des productions de chaleur les propriétés dynamiques du muscle pendant les phénomènes transitoires, montrait déjà qu'il fallait ajouter au terme a de la relation caractéristique de HILL, une force de friction F apparaissant aux grandes vitesses et de valeur absolue faible (0,02 à 0,05 Po). D'autre part, en étudiant les allongements forcés, AUBERT montre que les prévisions de l'équation de HILL s'avèrent fausses quand le muscle est étiré par une charge supérieure à Po. Tous ces faits mettent en évidence les limites de la con-

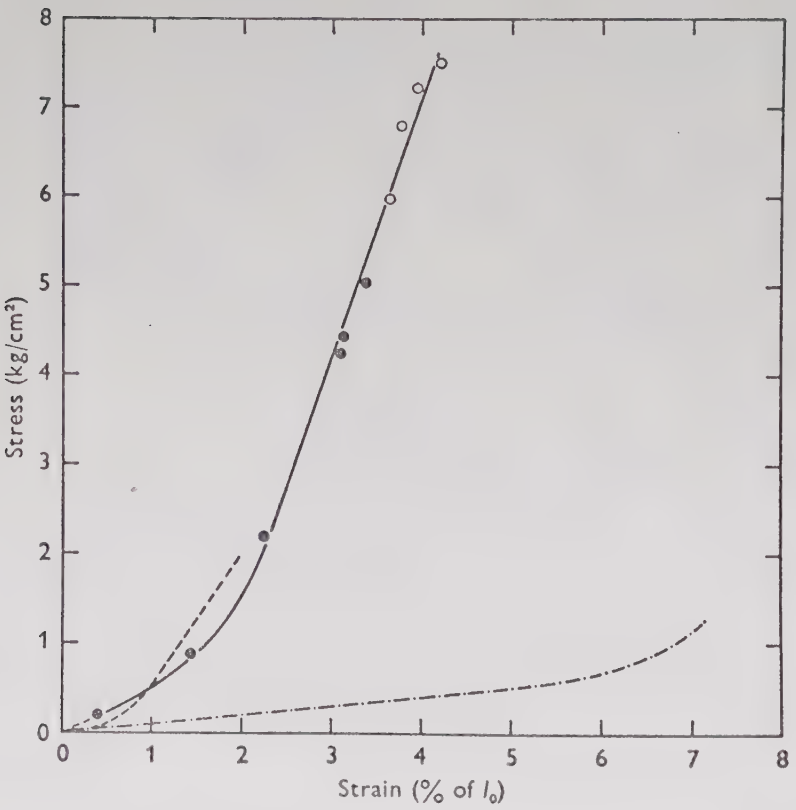


Figure 19 - CAVAGNA (1970)

Courbes tension-extension relative des éléments élastiques en série pour les muscles gastrocnémien de Grenouille (trait plein), couturier de Grenouille (ligne brisée tracée à partir des résultats de JEWELL et WILKIE, 1958) et Gracilis anticus du Rat (pointillé , à partir des travaux de BAHLER, 1967).

ception du muscle selon HILL. Ce sont les progrès des connaissances de l'ultrastructure de la fibre musculaire, liés aux expérimentations sur la fibre unique isolée, qui vont permettre à A.F. HUXLEY de proposer une nouvelle théorie, établie cette fois à l'échelle microscopique.

IV-3. La théorie des filaments glissants.

En 1966, GORDON, HUXLEY et JULIAN décrivent la relation existant entre la tension fournie par une fibre isolée de grenouille et la longueur des sarcomères. Cette relation est décrite par la courbe de la figure 20. Pour les longueurs de sarcomères supérieures à $2_{\mu}m$, GORDON, HUXLEY et JULIAN concluent que la tension isométrique est directement proportionnelle au nombre de sites d'interaction entre la myosine et l'actine, c'est-à-dire au nombre de ponts formés, lui-même proportionnel au recouvrement des filaments. En effet, entre $2,25_{\mu}m$ et $3,65_{\mu}m$, la relation tension-longueur est linéaire. La figure 20 schématise la relation entre la longueur des sarcomères et le recouvrement des filaments. Un autre résultat important est que la vitesse de raccourcissement libre (sans charge) dans cette gamme de longueur est remarquablement constante. Ceci suggère que le seul effet du changement de longueur est de modifier le nombre des ponts agissant simultanément. Si nous nous reportons à l'équation caractéristique de HILL, a ainsi que Po seraient proportionnels au nombre de sites actifs de telle sorte que :

$$a = {}_{\alpha}Po \quad \text{tandis que b reste constant.}$$

Si nous reprenons la discussion d'AUBERT (1956) à propos de la force F, force de friction apparaissant lors des mouvements rapides, AUBERT indique que F vient modifier a dans la relation de HILL ; cette relation pourrait alors s'écrire :

$$(P + a \pm F)(V + b) = \text{constante}$$

le signe affecté à F dépend du sens du mouvement.

De même MASHIMA, AKAZAWA, KUSHIMA et FUJII (1972) proposent une généralisation de la relation HILL telle que :

$$(P + A)(v + b) = b(F + A) \quad \text{avec} \quad A = \frac{aF}{Po}$$

La signification de cette force peut donc être discutée dans le cadre de la théorie des filaments glissants. En présence de I-fluoro-2,4-

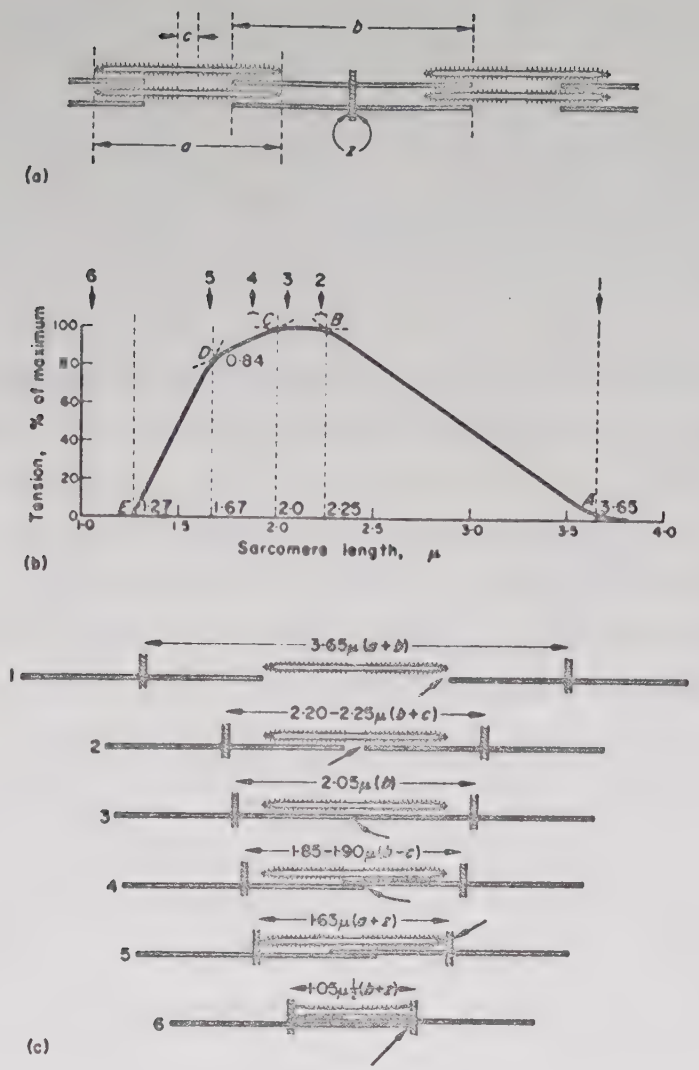


Figure 20 - GORDON, HUXLEY, JULIAN (1966)

Diagramme de la tension produite par une fibre unique de Grenouille en fonction de la longueur du sarcomère (b). Schématisation de la disposition relative des filaments d'actine et de myosine dans le sarcomère (a) et de leur recouvrement pour des longueurs particulières du sarcomère (c) pendant le reccourcissement.

dinitrobenzène, MARECHAL et DUMOULIN (1969) montrent que F est alors multipliée par 4. Cette augmentation pourrait s'expliquer ainsi : le I-fluoro-2,4 dinitrobenzène bloque la resynthèse de l'ATP à partir de la phosphoryl-creatine, partiellement aux concentrations expérimentales utilisées. Il y a à la fois moins d'ATP pour repomper le calcium libre, et moins d'ATP pour briser la liaison actine-myosine, d'où liaison d'une durée plus longue, opposant une force plus grande au mouvement. Ceci suggèrerait que la force F est liée à la présence de ponts actifs. D'autre part le pont est le site générateur de tension. Le cycle liaison-rupture amène le glissement du filament d'actine par rapport au filament de myosine. HUXLEY (1957) a quantifié cette génération de tension d'un pont en régime stationnaire. Cette théorie rapportée à la fibre entière est en accord avec la relation caractéristique de HILL. Elle sera développée dans la dernière partie de ce travail ainsi que les modifications apportées par HUXLEY et SIMMONS au modèle proposé pour rendre compte des états transitoires.

La théorie des filaments glissants et son analyse mathématique, permet généralement de fournir un modèle satisfaisant aux phénomènes expérimentaux observés sur fibre unique de Grenouille à 0°C. Ainsi, elle a permis à D.K. HILL (1968) de proposer une hypothèse de fonctionnement du muscle de Grenouille au repos (couturier). Il a mis en évidence une composante élastique, qu'il a nommé "short range elastic component" (SREC), lorsqu'on étire lentement le muscle au repos. La SREC se manifeste en produisant une tension jusqu'à une limite élastique atteinte pour environ 0,2% de la longueur du muscle. Au-delà de cette limite, lorsque l'étirement se produit, la tension reste constante sous forme d'une "force de friction résistante". D.K. HILL a calculé le module d'élasticité du SREC, et constate qu'il n'est pas modifié si on augmente la longueur à partir de laquelle l'étirement est appliqué. D'autre part D.K. HILL attribue une petite partie de la tension de repos à une interaction active entre les filaments : il l'appelle tension de repos filamentaire ou F.R.T., évaluée à 150 mgr poids, à une longueur du muscle correspondant à une longueur de sarcomère de 2 μm. La raideur du SREC et l'amplitude de la F.R.T. sont reliées entre elles : si on élève la concentration du milieu (1,5 à 2 fois normale) les deux croissent et atteignent une valeur importante. D'où HILL émet les hypothèses suivantes : dans un muscle au repos les ponts ne sont pas totalement inactifs, mais un petit nombre d'entre eux se lient (F.R.T.). Les liens sont très stables et ont une longue durée de vie. Le comportement élastique (SREC) serait dû aux propriétés élastiques de ces ponts, limitées car l'élasticité des ponts attachés ne peut leur permettre de s'étendre que sur une certaine distance,

à partir de laquelle ils "ripent". L'intérêt de ces hypothèses est de rendre univoques les mécanismes responsables de la tension aussi bien au repos que pendant la contraction musculaire. HILL suppose donc que l'inhibition des processus ne serait pas totale au repos, le muscle étant en état d'équilibre critique. L'ensemble de l'expérimentation de D.K. HILL a prété à critique, en particulier SANDOW (1970) estime que les preuves apportées par HILL ne sont pas sans faiblesse.

En fait, l'état sous liminaire de la contraction a été étudié par plusieurs auteurs, tant sous l'angle métabolique que celui des mesures mécaniques.

Lorsqu'on élève la concentration en potassium du milieu extérieur à des valeurs inférieures à celles provoquant une contracture (sous-liminaires) on observe déjà une augmentation de la consommation d'oxygène (NOVOTNY et VISKOCYL, 1966) et une chute du contenu en phosphorylcréatine, mise en évidence par empoisonnement du muscle (Van Der KLOOT, 1969). Van Der KLOOT (1967) relie l'accroissement de l'activité respiratoire due à une concentration sous-liminaire en potassium à une libération du calcium intracellulaire, et il estime que les modifications respiratoires sont un indicateur plus sensible de l'activité réticulaire que la réponse mécanique. De même NOVOTNY et VISKOCYL (1966)observent que l'accroissement de la consommation d'oxygène et les mouvements de 45Ca varient dans le même sens, et que la libération du calcium lié au réticulum serait responsable de ces effets, aussi bien lors d'une élévation de la concentration en potassium que par application d'une faible dose de caféine ne donnant pas lieu à une réponse mécanique. La contracture d'un faisceau de fibres de Grenouille provoquée par une concentration en potassium légèrement au-dessus du seuil, est plus rapide et plus intense si le muscle a été au préalable exposé à une concentration sous-liminaire de potassium (VOS et FRANK, 1972). De plus, au cours des premières secondes de cette contracture amplifiée la résistance à l'étirement est plus élevée. Ceci suggère donc qu'une certaine quantité de calcium a déjà été libérée lors de la première exposition, amenant la mise en jeu de ponts, en nombre insuffisant pour enregistrer une tension, mais se manifestant par une résistance plus élevée à l'étirement, et par la mise en route de l'hydrolyse de l'ATP puisqu'on relève déjà des variations du taux de la phosphorylcréatine.

Toutes ces observations montrent que le passage de l'état de repos à l'activité est un phénomène continu, mais qui doit atteindre un certain

développement pour que l'on recueille une réponse mécanique.

IV-4. Conception de l'état actif.

Nous avons vu que le lien entre l'excitation et la production de tension par les ponts était le calcium libéré par le réticulum. Aussi, TAYLOR (1969) et JULIAN (1969) ont proposé des modèles de la contraction musculaire où l'intensité de l'état actif est lié au nombre de ponts formés, lui-même sous la dépendance de la quantité de calcium libéré, d'où relation directe entre l'état actif et la liaison du calcium par les myofilaments. JULIAN (1969) reprend le modèle de HUXLEY (1957) auquel il ajoute un élément élastique en série. Ce qui lui permet de rendre compte des phénomènes transitoires, c'est l'ajout d'un mécanisme d'activation qui régule l'interaction entre les filaments. Ce mécanisme d'activation est la liaison du calcium avec l'actine, défini par une relation en fonction du temps et exprimant la durée et l'amplitude de la liaison du calcium avec les myofibrilles. Selon JEWELL et WILKIE, le temps mis par l'état actif pour atteindre son intensité maximum est de 60 ms (grenouille 0°C) alors que CLOSE indique 40 ms (id.) valeur que choisit JULIAN. Donc $\gamma(t)$, le facteur d'activation, varie de 0 à 1 pendant les premières millisecondes, se maintient très peu longtemps, pour décroître de 1 à 0 au bout de 1,2 seconde. Le type de fonction qui représente $\gamma(t)$ est celle définie par HODGKIN et HOROWICZ (1960) qui est une fonction exponentielle. Les caractéristiques de l'élément élastique en série, en particulier sa raideur, sont empruntées à JEWELL et WILKIE (1958). Le modèle est représenté par le schéma n°21. Ce modèle permet à JULIAN de rendre compte de la forme des courbes de la secousse, de la montée du tétanos isométrique, des relâchements brefs pendant un tétanos, pendant une secousse et des étirements brefs pendant la secousse. Pour des raisons de simplification mathématique nécessaires à sa modélisation l'auteur élimine les évènements du couplage excitation-contraction précédant la liaison du calcium par les myofibrilles. Ceci élimine la phase de latence ; la pente de la montée de la secousse est donc plus raide que celle obtenue expérimentalement. Le point intéressant réside dans le fait que lors d'une secousse étirée, la tension atteint Po, environ 200 ms après le temps O, alors qu'à ce même instant $\gamma(t)$ est retombé à 0,45. D'où l'auteur conclut qu'il n'y a pas nécessité que l'activation soit maximum pendant tout le temps, pour que la force se maintienne près de la valeur tétanique. Il tente d'expliquer ce fait par un ralentissement du repompage du calcium permettant à un taux plus faible de calcium de maintenir la tension à un niveau élevé. Ici apparaît

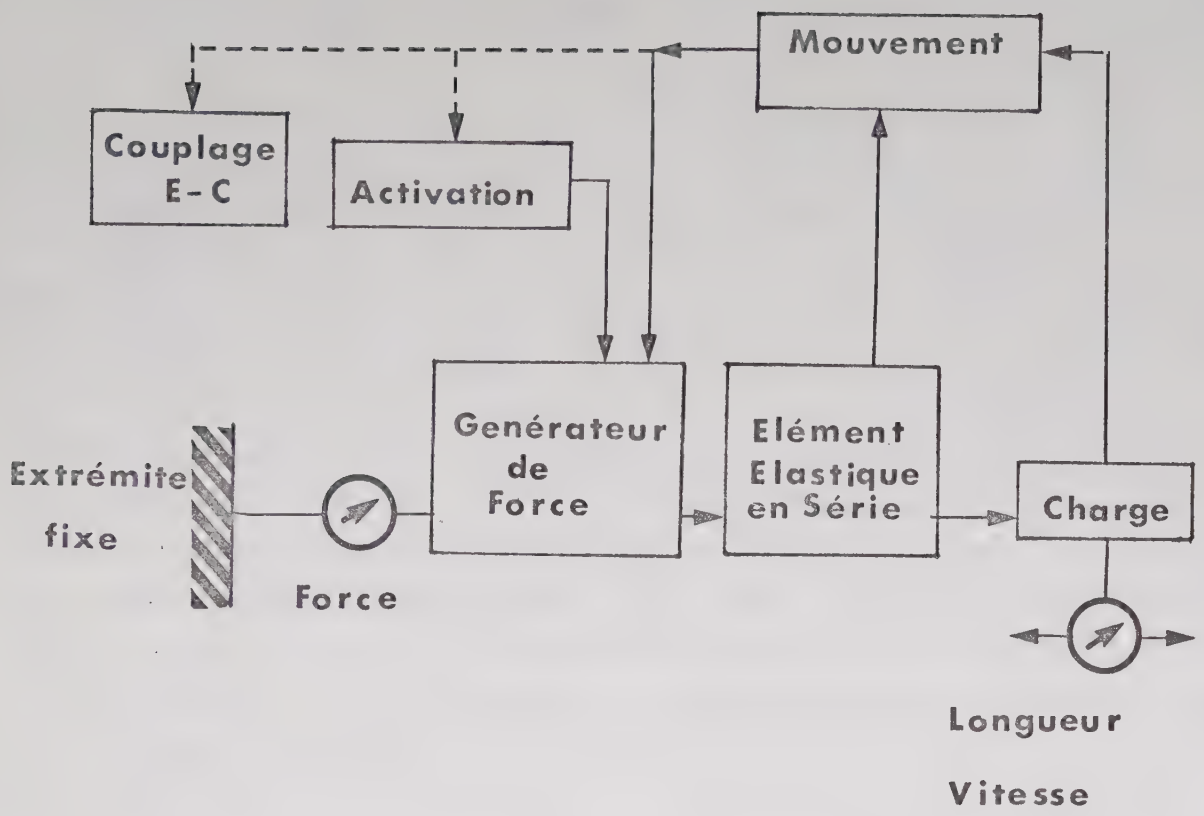


Figure 21 - JULIAN (1969)

Schéma du modèle utilisé par JULIAN pour l'étude de la contraction musculaire de Grenouille, en particulier en présence des agents renforçateurs. Le point intéressant de ce modèle est l'introduction de l'activation par les ions Ca^{++} du mécanisme contractile : cinétique de la réaction de liaison Ca^{++}-myofibrilles.

une différence de signification entre activation et état actif, ce dernier étant lié non seulement à la quantité de calcium libéré mais encore à la vitesse du repompage par le réticulum. Nous pouvons donc lier l'intensité de l'état actif à deux facteurs : le premier étant la quantité de calcium libéré par le réticulum lors de l'excitation, et le second la vitesse de repompage du calcium par le réticulum.

C'est le couplage de ces deux réactions qui sous-tend le modèle de TAYLOR (1969). Pour lui l'état actif est défini comme la quantité de complexe chimique calcium-protéine contractile (Ca-M). L'intensité de l'état actif est lié à la quantité de complexe Ca-M formé, entité chimique dont la cinétique de liaison et la reversibilité définissent la durée de l'état actif. La reversibilité est liée au fonctionnement de la pompe réticulaire dont l'activité commence aussitôt après l'excitation. A chaque instant l'intensité de l'état actif est fonction de la quantité de calcium libéré moins celle reprise par le réticulum. Les vitesses des deux réactions sont différentes, la deuxième étant bien sûr plus lente. Les valeurs expérimentales choisies par TAYLOR sont celles de SANDOW (Grenouille à 20°C). La relation utilisée pour connaître la tension fournie par le complexe Ca-M est la relation de HILL. Lors d'une secousse, les deux réactions gouvernant le modèle débutent ensemble, et le complexe Ca-M n'atteint pas la valeur maximum (tétanique). Ce modèle permet de rendre compte des courbes de tension de la secousse, des secousses renforcées en présence des potentiateurs de type A et B de la sommation de plusieurs secousses, du développement de la tension lors d'un tétanos et de son redéveloppement lors d'un relâchement bref. Le point intéressant de ce modèle, est que dans le cas du renforcement par les potentiateurs de type A, la courbe de l'état actif s'élève plus vite à son maximum. Dans le type B, la pente de la montée n'est pas modifiée par rapport à la normale, mais simplement la durée en est allongée.

L'intérêt de ces deux modèles réside dans l'introduction de l'activation pour rendre compte des phénomènes transitoires de la contraction et d'attribuer à ce mécanisme et non à la présence des éléments élastiques en série seulement, la forme du myogramme isométrique.

IV-5. Problèmes posés par les tentatives de modélisation du comportement musculaire.

Pour stimuler le comportement du muscle on peut procéder de deux manières différentes :

1°)-Si l'on sait correctement définir et décrire le comportement du système étudié à l'échelle élémentaire (ici à l'échelle du sarcomère) on peut espérer en déduire le comportement global en supposant que tous les sarcomères se comportent de façon identique. Le rôle du modèle consiste à calculer l'effet global qui en résulte, par exemple la force ou le mouvement que l'on peut enregistrer expérimentalement (voir le modèle de JULIAN, 1969).

2°)-Ou bien l'on peut procéder d'une manière semi-empirique qui s'apparente à la méthode de la boîte noire. On considère le système global à étudier (le muscle) que l'on soumet à une série de traitements. On espère le caractériser par la comparaison entre les entrées (traitements) et les sorties (réponses). Sont considérées comme caractéristiques du système les termes raisonnablement constants que la comparaison fera apparaître. C'est le cas de la courbe caractéristique de HILL exprimée par l'équation bien connue. L'expérimentation suivant la méthode de la boîte noire ayant fourni une courbe jugée caractéristique du système, l'analyse est poussée plus loin et on cherche alors à remonter plus avant vers la connaissance de l'architecture interne du système à partir des coefficients caractéristiques de la courbe. C'est, par exemple, le cas de l'introduction du concept de force interne de frottement à partir de l'analyse expérimentale des équations de HILL et de FENN et AUBERT.

On pourrait également chercher la modélisation à tout prix. Pour ce faire, on se base sur des résultats expérimentaux débouchant sur des relations simples comme la proportionnalité entre un allongement et la force de rappel. Ces résultats simples sont généralisés, sous forme de lois à l'aide d'hypothèses plus ou moins fondées, le but ultime étant d'arriver à un système d'équations que l'on résoudra à l'aide d'un modèle. La solution est alors comparée aux résultats expérimentaux. Dans le cas (le plus fréquent) où ces courbes diffèrent on procède à des ajustements en jouant sur les coefficients de l'équation, généralement mal connus (la raideur des éléments élastiques, le degré d'activation de l'élément contractile). On arrive toujours à ajuster raisonnablement le modèle et le système pour une expérience donnée, mais le danger consiste à croire qu'on a en mains un modèle représentatif du système et à en déduire des idées nouvelles sur son architecture interne. Il y a en effet, le plus souvent un très grand nombre de combinaisons des différents coefficients de l'équation qui donnent des ajustements apparemment acceptables. A chacune de ces combinaisons correspond une série d'hypothèses concernant l'architecture interne supposée du muscle. En définitive on retrouve à la sortie du modèle, les incertitudes que l'on y avait introduites. Un ajuste-

ment donné prouve que le modèle et le système se comportent d'une manière analogue pour l'expérience considérée et seulement pour elle. Il n'autorise en aucune manière, ni l'extrapolation, ni des conclusions concernant la description interne du système. Un exemple frappant de modélisation abusive nous est donné par le travail de TARDIEU, TARDIEU, GAGNARD, TABARY et PFEIFFER et CASPI, POULIQUEN et RICHALET (1970). Ce processus ne peut être retenu en recherche fondamentale. Par contre, il peut être utilisé à des fins pratiques dans la gamme de variations des paramètres qui ont servi à l'ajustement. Il n'y a pas encore, à notre connaissance, de tentative valable de modélisation du muscle strié de Mammifère à 37°C faute d'une description du comportement à l'échelle élémentaire. En raison du caractère illusoire et dangereux que représente le processus de modélisation à tout prix (voir TARDIEU et coll.) nous nous sommes limitée à l'expérimentation semi-empirique sur muscle en survie dans des conditions physiologiques dont nous nous sommes efforcée de contrôler au mieux les divers paramètres.

V - Théories modernes sur la structure et la dynamique élémentaire du muscle.

A l'issue de plusieurs années de recherches expérimentales, A. F. HUXLEY proposait en 1957 une description fine du sarcomère et de ses propriétés dynamiques, rendant compte des variations de longueur à vitesse constante (stationnaire). Il ressortait de ces travaux que :

1 - L'épaisseur de la bande A ne change pas pendant l'allongement et le raccourcissement modéré.

2 - L'indice de réfraction élevé et la biréfringence qui caractérisent la bande A sont due aux filaments de myosine.

3 - Les filaments d'actine sont disposés le long de la bande I et dans la bande A jusqu'à la limite de la zone H, espace libre entre deux ensembles de filaments d'actine voisins (1/2 sarcomère adjacent).

4 - Sauf dans le raccourcissement extrême, les variations de longueur n'ont pas lieu par allongement ou raccourcissement de l'un quelconque de ces ensembles de filaments, mais par glissement de l'un par rapport à l'autre là où ils se recouvrent (zone A).

5 - C'est au niveau de la ligne Z qui partage la bande I que se transmettent les variations de potentiel électrique de la membrane, accompagnant

l'excitation, qui activent les myofibrilles contractiles, chez la Grenouille. Pour rendre compte du mécanisme de la contraction et des effets thermiques qui l'accompagne, A. F. HUXLEY proposait un système alimenté par activation enzymatique et dont les liaisons mécaniques (entre les filaments) sont élastiques hookiennnes et discontinues (sautant d'une position stable à l'autre). Nous allon décrire plus en détail ce système (figure 22). Sur le filament de myosine existent des sites M, chacun d'entre eux pouvant se mouvoir le long du filament. Les mouvements de M sont limités par une liaison élastique hookienne. Sur le filament d'actine, existent des sites A. Quand M n'est pas lié à A, il oscille autour d'une position d'équilibre O en raison de l'agitation thermique. Supposons que les filaments glissent l'un par rapport à l'autre. Des sites A vont défiler devant M. Quand l'un d'eux aura un état d'activation suffisant, il sera capté et la liaison actine - myosine AM sera réalisée. A partir de ce moment, les filaments sont reliés par une liaison élastique. AM se déplace vers O quand le muscle se raccourcit. Au delà de O, le mouvement relatif du filament se poursuit néanmoins mais freiné par la force résistante du ressort jusqu'à ce que la liaison soit brisée (réaction 2, libération de chaleur). Cette séquence d'évènements a lieu pour un certain nombre de sites sur chacun des filaments de chaque bande A, mais de manière asynchrone, ce qui permet à la tension générée dans le muscle de ne pas fluctuer tandis que les liaisons se font et se défont.

Les réactions qui prennent place pendant un cycle sont :

1)-liaison de A et M (par hypothèse spontanée). $A + M \longrightarrow AM$

2)-rupture de la liaison AM, nécessité de fournir de l'énergie XP
P liaison riche en énergie $AM + XP \longrightarrow A\,XP + M$

3)- $AXP \longrightarrow A + X + PO_4$

retour aux conditions initiales, glissement du site M vers le site A suivant. A et M peuvent se combiner de nouveau tant que l'activateur persiste.

A. F. HUXLEY avait à l'époque fourni une description mathématique de cette visualisation mécano-énergétique du comportement microscopique du muscle strié, moyennant le choix de valeur appropriées des paramètres et intégration des résultats à un fibre entière. Il retrouvait correctement les équations de HILL tant du point de vue mécanique (relation force-vitesse) que calorimétrique. Cependant, cette théorie ne prétendait rendre compte que des variations de longueur à vitesse constante : "steady-state

length change". Pour prendre aussi en considération les mouvements transitoires, l'équipe de A. F. HUXLEY a poursuivi ses recherches et a finalement proposé (A. F. HUXLEY et R. M. SIMMONS, 1971) un schéma qui va faire l'objet du développement suivant et dont il faut remarquer qu'il reste cohérent avec le schéma initial de HUXLEY.

En effet il est basé sur les notions suivantes :

- modification de longueur du sarcomère par glissement relatif des filaments.

-liaisons élastiques discontinues.

-énergie motrice liée à l'activateur enzymatique.

L'expérimentation a été réalisée sur fibre unique du muscle semi-tendineux de Grenouille à 0°C - 4°C.

Considérons la figure 23 et son agrandissement schématique. On constate que la réponse du muscle à un raccourcissement y peut être divisée en trois régions :

- une réponse quasi immédiate (B C)
- une remontée rapide de la tension (C D)
- une remontée plus lente de la tension (D E)

La première partie BC représente un terme d'élasticité quasi immédiate, c'est à dire une élasticité hookienne. La seconde partie CD représente une réponse retardée, mais encore rapide. La troisième enfin est la lente remise à l'équilibre du système. Il s'agit ici d'interpréter les 2 premières parties (rapides) de la réponse transitoire, en les traitant séparément, si possible. Pour cela on a commencé à représenter graphiquement T1 point le plus bas de (BC) et T2 point le plus haut de (CD) en fonction des différents y (allongements ou raccourcissements) opérés sur le muscle. On obtient la courbe de la figure 24a qui appelle immédiatement quelques commentaires :

-d'abord, les points expérimentaux se rangent sur des courbes, ce qui indique qu'il y a une certaine logique et encourage à trouver celle-ci.

-ensuite la courbe T1 est sur une part importante du domaine investigué une droite, ce qui confirme dans ce domaine l'hypothèse de l'élasticité hookienne. Pour le reste du domaine on remarquera qu'il s'agit de grandes valeurs de y (grands raccourcissements).

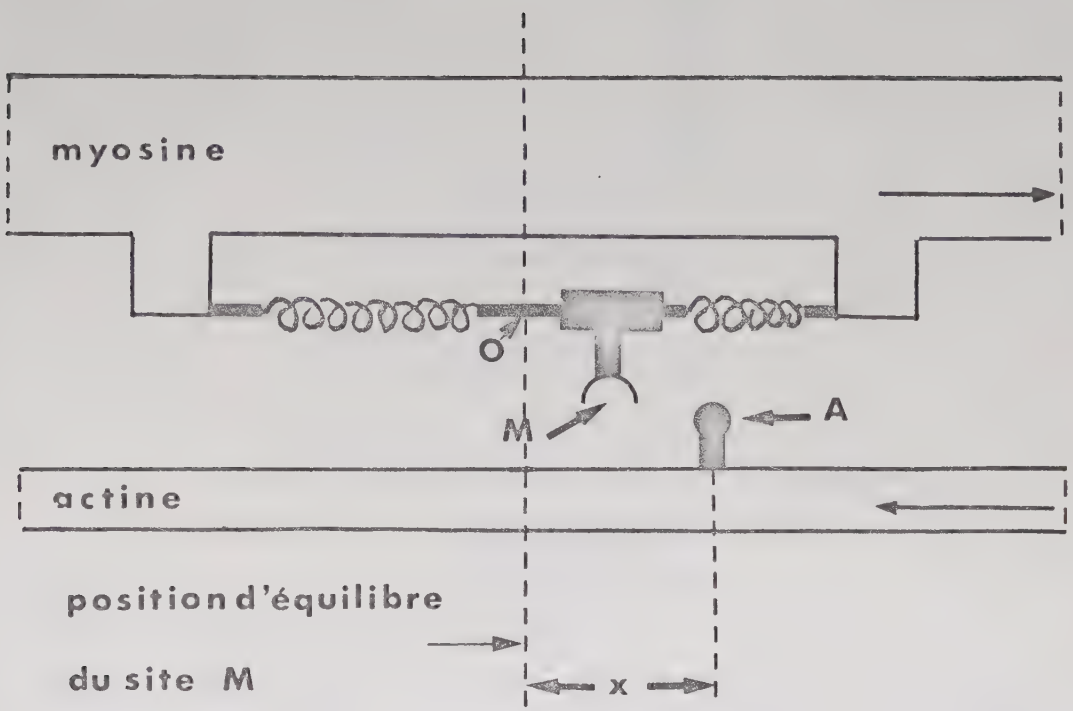
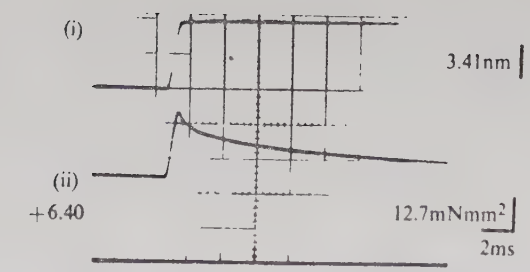
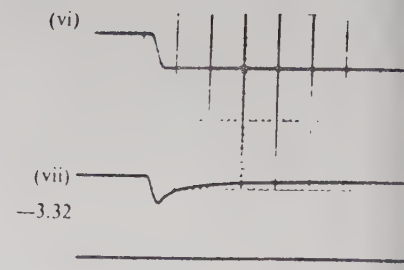
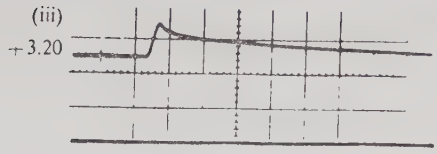


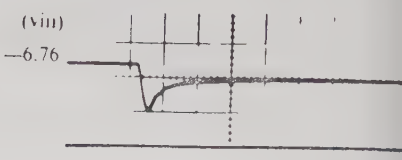
Figure 22 - A. F. HUXLEY (1956).

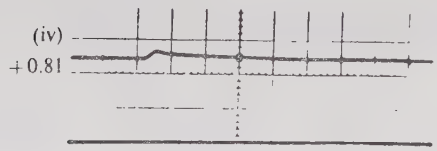
Schéma visualisant la possibilité de liaison entre le filament de myosine porteur du site M relié au corps du filament par une liaison élastique et le site A du filament d'actine. M peut osciller de part de d'autre de la position d'équilibre O. Les flèches indiquent le sens du mouvement relatif des deux filaments pendant le raccourcissement.

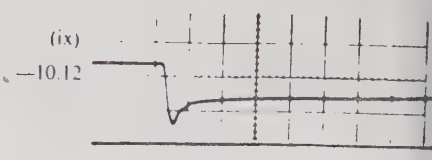


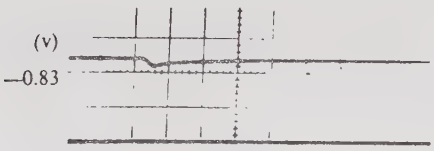


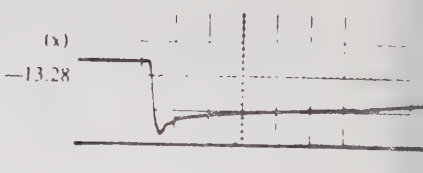












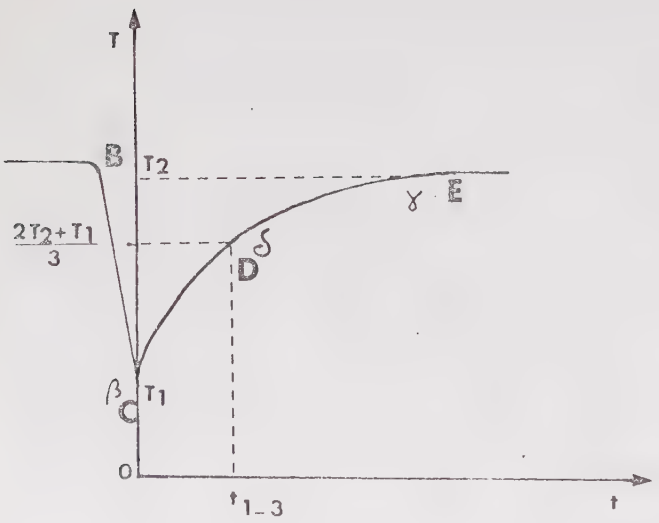


Figure 23 - HUXLEY et SIMMONS (1971).

a- Variation transitoire de tension exercée par une fibre musculaire stimulée tétaniquement quand elle est brutalement allongée (2 à 4) ou raccourcie (5, 7 à 10). Le nombre qui figure à côté de chaque enregistrement est l'allongement d'un demi-sarcomère, en nm.

b- Points expérimentaux de la courbe de brève reprise de tension servant à définir l'exponentielle la plus rapprochée.

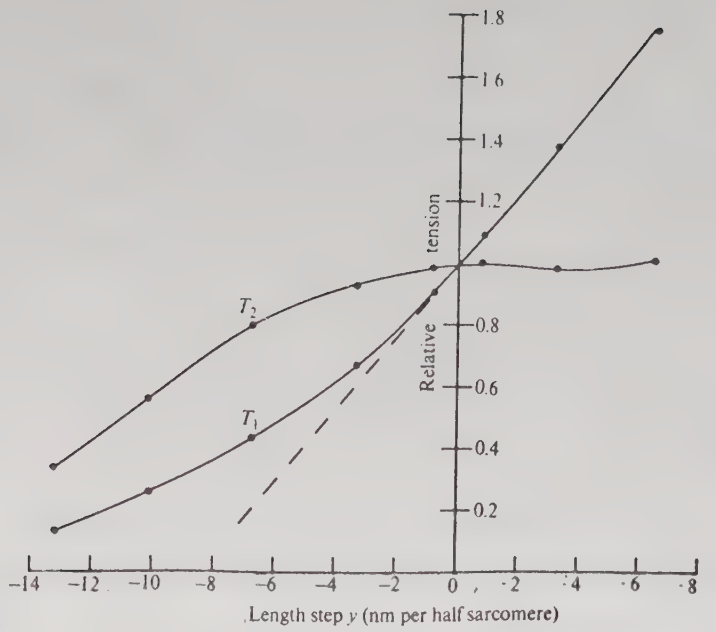


Figure 24a - HUXLEY et SIMMONS, 1971

T_1 et T_2 en fonction de brèves variations de longueur (positives pour un allongement, négatives pour un raccourcissement) sont rapportées au 1/2 sarcomère. La courbe en pointillé est l'extrapolation de la courbe T_1 qui correspond aux allongements et aux petits raccourcissements. Valeurs expérimentales issues de la figure 78.

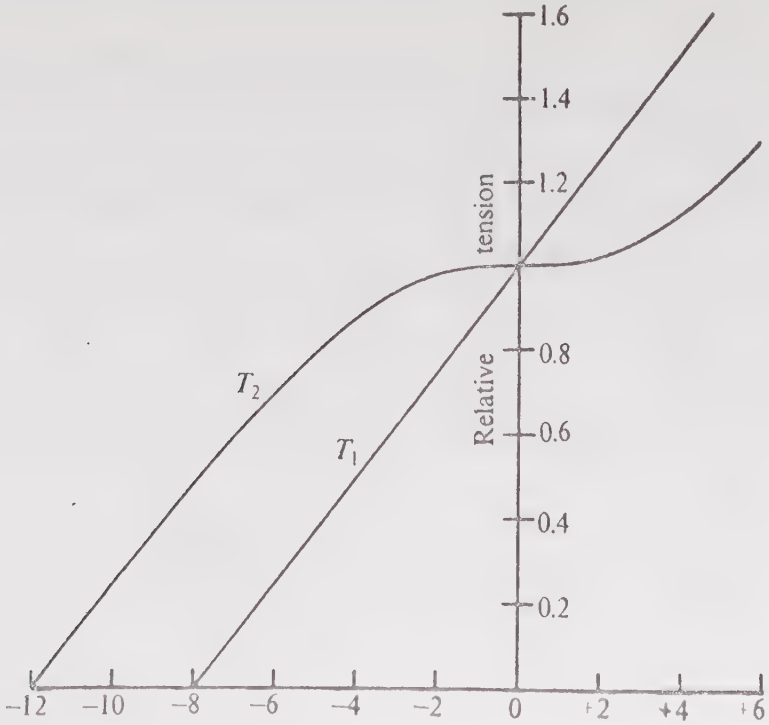


Figure 24b - HUXLEY et SIMMONS, 1971

Courbes de $\frac{T1}{To}$ et $\frac{T2}{To}$ théoriques pour un système simplifié (à 3 dents ou 2 positions stables d'équilibre). Même échelle que T_1 et T_2 expérimentales. T_2 est la représentation graphique de l'équation (23) (annexe n°II) avec

$E_1 - E_2 = 4\ kT$, $1/\alpha = 2$ nm, $h = 8$ nm.

Ces faits encouragent à poursuivre l'interprétation en profondeur du phénomène. Considérons de nouveau l'agrandissement des régions BC et CD. La branche CD a, à peu près, l'allure d'une exponentielle. Les enregistrements de la figure 23 suggèrent que la forme de l'exponentielle (gouvernée par la constante devitesser) doit être fonction de la variation de y. On a finalement trouvé entre ces grandeurs la relation suivante :

$$r = \frac{r2}{2} \left(1 + e^{-\alpha y} \right) \qquad (1)$$

qui, comme le montre la courbe de la figure 25 est en accord très raisonnable avec les valeurs expérimentales (voir Annexe II, Définition graphique de r).

L'étape suivante est de donner une représentation mécanique et si possible théorique de ces corrélations. Rappelons ce qui est acquis jusqu'à présent :

- la réponse "transitoire rapide" à une variation de longueur (y), peut être séparée chronologiquement en deux parties, à savoir :

  -la première caractéristique d'un système élastique hookien,

  -l'autre, plus tardive, a une allure exponentielle, avec une constante de vitessedonnée par l'équation (1).

Pour en rendre compte, l'auteur est parti du schéma initial de HUXLEY (1957), figure 22, auquel il a adjoint une élasticité interne modifiée (dans les ponts) et un système retardateur, en utilisant les remarques déjà faites par des chercheurs précédents :

- les "ponts" peuvent riper sur un petit nombre de sites, dont bien entendu, les énergies potentielles doivent être décroissantes,

-le temps mis pour décrocher un "pont" est supérieur à celui nécessaire à l'arrimage sur un nouveau site (PODOLSKY, NOLAN, ZAVELER, 1969).

Considérons donc (figure 26) les filaments d'actine et de myosine reliés par un tel système. Celui-ci est constitué par une portion de roue dentée, dont les dents peuvent s'engrener dans quelques logements correspondants qui existent dans l'actine, dont l'axe est relié à un point fixe dans la myosine par l'intermédiaire d'une barre élastique AB. On remarquera que si les sites A_1, A_2, A_3 ... ont des énergies potentielles adéquates, résultant du bilan mécanique et électrique (celui-ci dû à l'activation), la

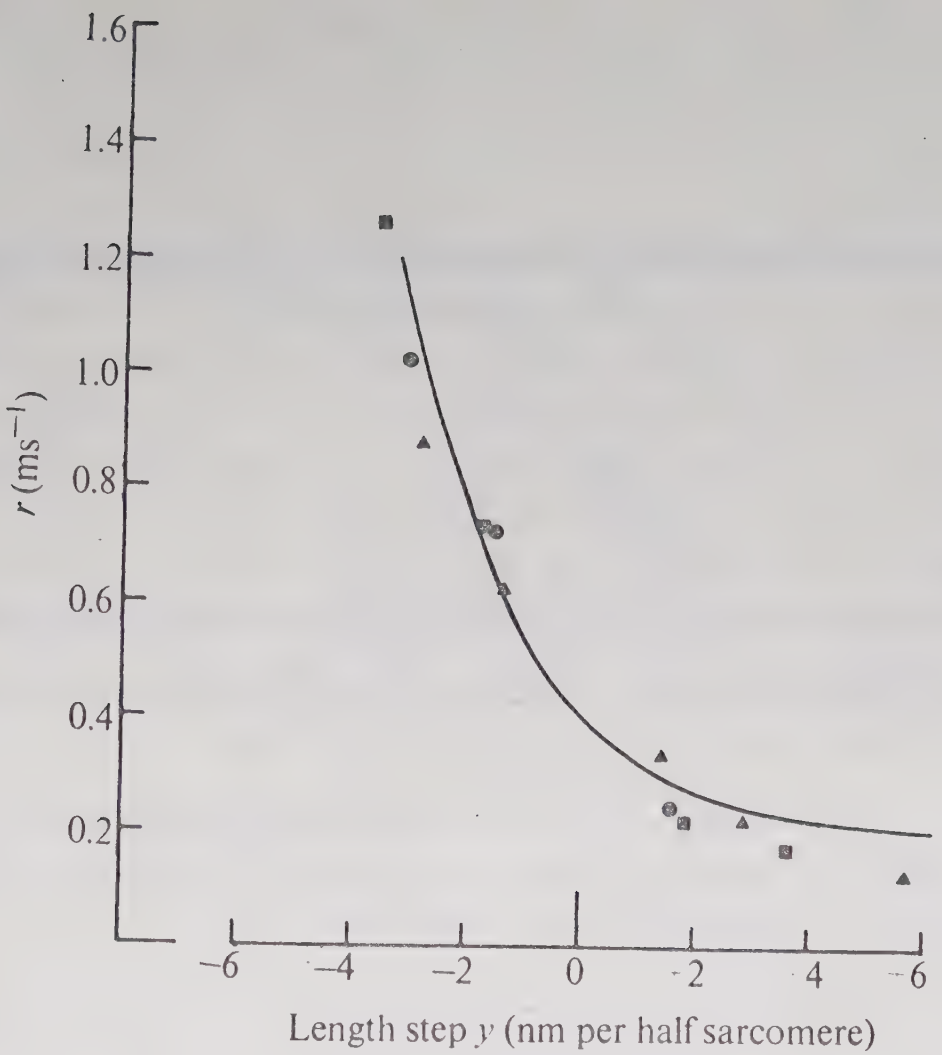


Figure 25 - HUXLEY et SIMMONS, 1971

Constante de vitesse r de la brève reprise de tension qui suit un "pas de longueur" d'amplitude y (+pour l'allongement). On a admis que l'exponentielle qui se rapproche le plus de la courbe expérimentale passe par les points $\alpha, \beta, \gamma,$ (voir figure 23b). Le point est défini de la manière suivante : c'est le point de la courbe expérimentalepour lequel la tension a la valeur $T = \frac{2T2 + T1}{3}$. On appelle $T_{1,3}$ le temps correspondant. Dans ces conditions l'exponentielle étant définie par les 3 points, sa constante de vitesse se calcule aisément (voir annexe n°IV).

$$r = \frac{\ln 3}{t_{1,3}}$$

roue dentée pourra tourner avec allongement ou raccourcissement de AB sans qu'il y ait nécessairement glissement relatif de l'actine et de la myosine. On peut donc générer une tension dans le système sans modification de longueur. Le système est tel que deux dents consécutives peuvent se loger dans les positions correspondantes de la crémaillère d'actine : ce sont les positions stables. Ce système fonctionne donc sous l'effet des potentiels existants (voir Annexe III) de la manière suivante : il va d'une position stable à l'autre en pivotant autour des positions instables où une seule dent est engagée. Une description analytique du comportement mécanique et énergétique d'un tel système soumis à des brutales variations de longueur (allongements et raccourcissements) est donnée en Annexe IV. Il est tout à fait remarquable de constater que cette analyse aboutit à des réponses très comparables aux réponses expérimentalement trouvées sur muscle réel, à savoir:

-la forme des courbes T_1 et T_2 (voir figure 24 a)

-la forme de la courbe théorique (figure 24 b).

L'identification des courbes expérimentales et théoriques a permis alors de donner des valeurs numériques aux coefficients des équations décrivant ces dernières (voir Annexe IV).

Ces valeurs sont les suivantes :

$$E_1 - E_2 = 4\,k\,T$$

$h = 8$ nm nm : nanomètre

$K = 2,5 \times 10^{-4}$ N m^{-1}

Par contre, en poursuivant l'interprétation quantitative jusqu'à son terme, les auteurs constatent un certain écart entre le nombre de molécules supposé et réel encore que l'ordre de grandeur soit satisfaisant et entre le travail calculé et le travail mesuré. Ils estiment que cet écart est dû principalement au fait qu'ils se sont limités pour simplifier la théorie à 3 dents (2 positions stables) alors qu'un système à 4 dents (3 positions stables) leur paraît plus probable.

Ce schéma et son processus de mouvement sont les premiers qui permettent de rendre compte non seulement de la phase transitoire brève en question mais encore des implications mécaniques et thermodynamiques de l'équation de HILL. En effet, ce dernier point a déjà été établi par HUXLEY en 1957 dans le schéma de base dont celui-ci est dérivé.

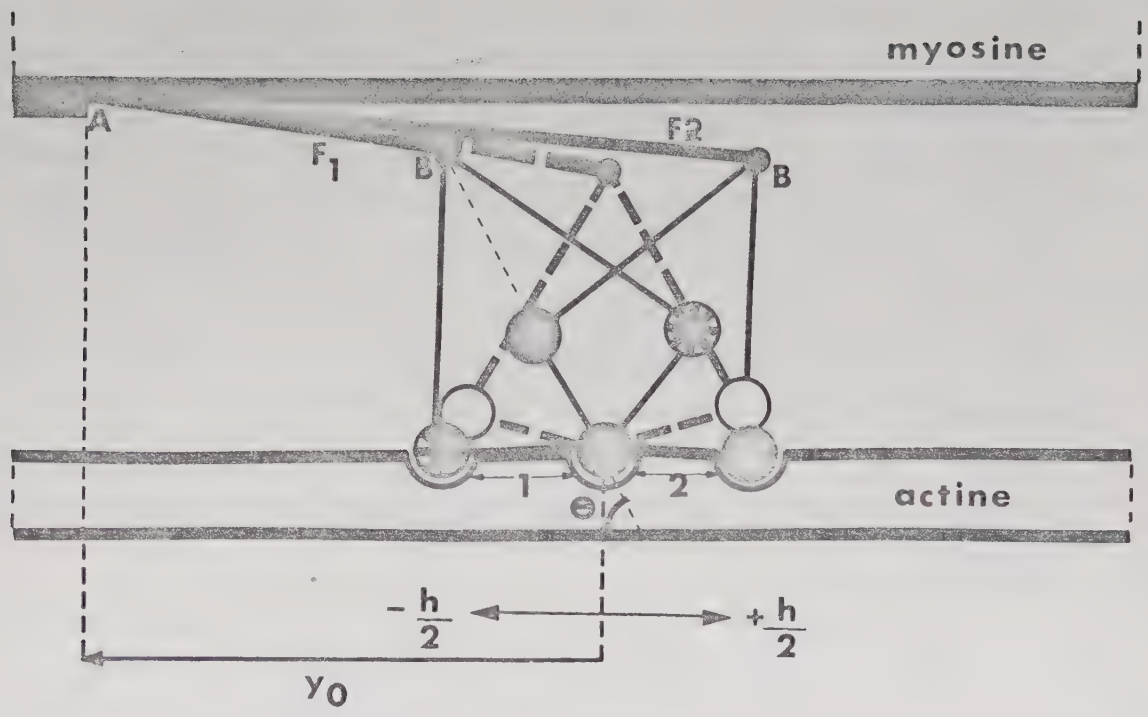


Figure 26 - HUXLEY et SIMMONS, 1971.

Visualisation des propriétés d'un pont à 2 positions stables. La tête de myosine H est connectée au filament épais par une liaison AB contenant l'élasticité hookienne qui se manifeste sous forme de T_1 dans la fibre entière (figure 80). Les différentes figures représentent les positions successives de la "roue dentée" lorsqu'elle passe de la position stable 1 à la position stable 2.

En conclusion, les changements de tension que l'on observe dès les premières millisecondes qui suivent un brusque changement de longueur d'une fibre de muscle actif, suggère le mécanisme suivant pour produire la tension, ou raccourcir le muscle, par l'intermédiaire des ponts : chaque pont a trois positions stables avec des niveaux d'énergie potentielle progressivement décroissant par étapes, à peu près 4 kT, séparés par un trajet d'environ 4 nanomètres. Le transfert de l'une de ces positions à la suivante est rendu possible, sans déplacement corrélatif des filaments, par la présence d'une élasticité associée à chaque pont individuel. La tension ainsi produite dans l'élément élastique va apparaître, si la longueur du muscle est maintenue constante, ou elle contribuera au glissement relatif des filaments, si on laisse le muscle se raccourcir.

VI - Renforcement de la secousse chez le Mammifère. But du présent travail.

Si le muscle strié de Grenouille a été le matériel de choix des physiologistes, c'est grâce à sa facilité d'utilisation. En effet, on peut le refroidir sans dommage à 0°C, d'où un allongement du temps de contraction facilitant l'étude des phénomènes rapides. D'autre part, il se prête à la dissection fine, et la fibre unique de Grenouille a permis, en étudiant une seule cellule, d'éliminer les artefacts dus à la multiplicité. Par contre, l'acquisconcernant le rôle du calcium, en particulier grâce aux techniques d'isolement des myofibrilles, a été réalisé par les physiologistes et les biochimistes de la contraction musculaire sur muscle de Mammifère, le psoas de Lapin. L'extrapolation du fonctionnement à partir des données obtenues sur deux espèces est utile, mais peut être source d'erreurs. Peu de travaux ont porté sur le muscle de Mammifère dans le domaine de l'électrophysiologie et dans celui de l'étude des propriétés mécaniques. C'est un matériel plus délicat, supportant plus difficilement le séjour in vitro, d'où un certain nombre d'expérimentation in vivo. Mais dans ces conditions le contrôle des divers paramètres (température, longueur du muscle, etc...)est beaucoup plus délicat. In vitro, le muscle est extrêmement sensible à toute variation de température et d'oxygénation, d'autant plus qu'on se rapproche de la température du corps de l'animal.

A travers l'étude du renforcement de la secousse, notre effort a porté vers une meilleure connaissance des mécanismes sous-tendant le couplage excitation-contraction chez le Rat. Nous pensions, au début de ce travail, retrouver dans ses grandes lignes un fonctionnement voisin de ce-

lui du muscle strié de Grenouille. Les divergences de comportement en présence des agents renforçateurs nous ont permis de mieux cerner les diverses étapes de la contraction pour le muscle de Mammifère.

———— 0 ————

CHAPITRE III

TECHNIQUES

I - Préparations.

Dans ce travail nous avons utilisé deux préparations : des lambeaux de muscle diaphragme de Rat et des lombricaux de la patte postérieure.

Les rats, mâles ou femelles, étaient âgés de 5 à 6 semaines environ, et pesaient de 110 à 130 grammes, en général. Nous avons choisi de jeunes rats, de manière à rencontrer le moins de conjonctif possible, mais d'un âge tel que l'évolution anatomo-morphologique des fibres soit terminée (GUTMAN et HANZLIKOVA, 1966).

I-1. Diaphragme de Rat.

Selon le type d'expérience nous avons prélevé sur des hémidiaphragmes des lambeaux plus ou moins importants. Le lambeau était prélevé généralement en arrière de l'arrivée du nerf phrénique, là où nous pouvions observer de beaux faisceaux de fibres rouges parallèles et de grand diamètre. La largeur du lambeau était de 1 mm environ, la longueur des fibres entre l'insertion costale et les insertions tendineuses sur le centre phrénique était de 14 mm environ (longueur in-situ).

Nous avons été amenés à disséquer des faisceaux de fibres isolées de manière à obtenir des préparations plus petites. Nous prélevions un faisceau bien individualisé, côté pleural, de manière à éviter le conjontif serré de la face hépatique. Nous avons pu ainsi observer que les faisceaux de fibres, situés en profondeur, s'entrecroisent avant de s'insérer sur le centre phrénique. Cet entrecroisement est moindre autour de l'insertion du nerf phrénique aussi bien en avant qu'en arrière.

I-2. Le lombrical du Rat.

La figure 27 représente une patte gauche du Rat où l'on a indiqué les deux muscles lombricaux habituellement prélevés. Le 1er lombrical est d'un abord plus aisé, mieux individualisé par un tendon terminal long et fin, mais demande à être bien isolé du conjonctif qui l'enveloppe. La longueur des fibres in situ est de 9 à 10 mm environ, le diamètre du muscle dans sa

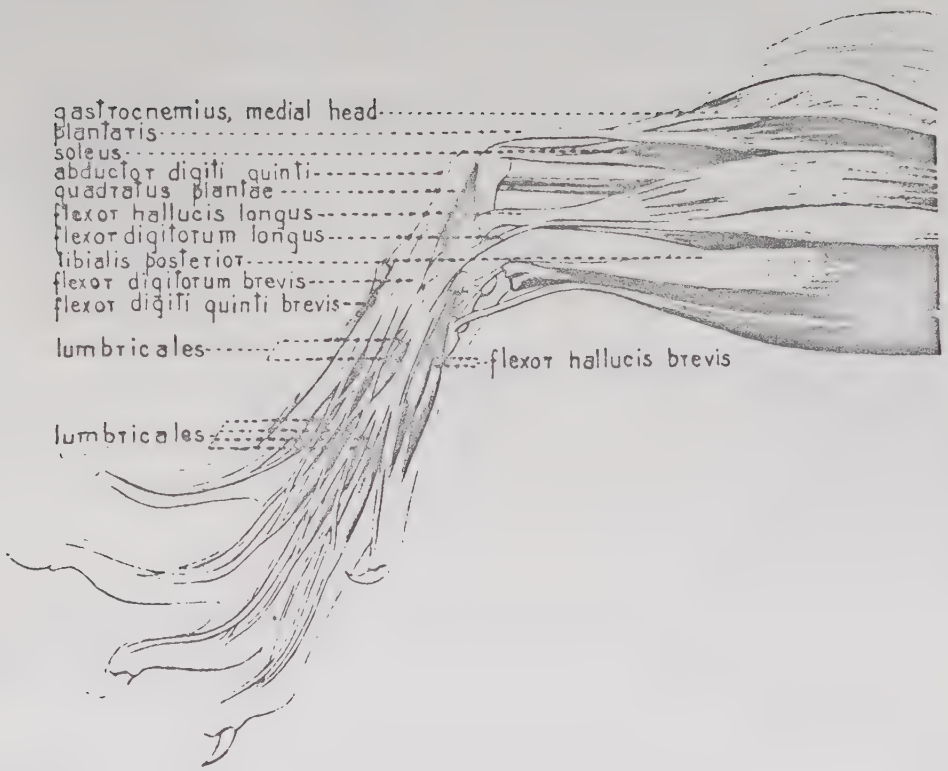


Figure 27 - GREENE (1959)

Anatomie de la patte gauche du Rat. Localisation des muscles lombricaux.

partie cylindrique de 1mm environ. Le conjonctif liant les faisceaux est peu dense et il est possible d'utiliser seulement une fraction du muscle.

I-3. Quels types de fibres composent ces muscles ?

La morphologie du diaphragme de Rat a particulièrement été étudiée par GAUTHIER et PADYKULA (1968). Le muscle est constitué de 60% de fibres rouges, 20% de fibres blanches et 20% de fibres intermédiaires. BROTCHI (1968) indique une composition uniformément mixte entre les fibres lentes et rapides. ALVARADO-MALLART (1973) aboutit à la même conclusion après étude histochimique du lambeau que nous avons utilisé dans ce travail (planche n°28). YELLIN (1969) n'a pas observé de fibres de type intermédiaire dans les muscles lombricaux de Rat qu'il a étudiés : seules étaient présentes des fibres blanches et rouges de type rapide. La répartition entre les divers types de fibres du lombrical que nous utilisons a de même été étudiée par ALVARADO-MALLART (communication personnelle) et figure dans la planche n° 29.

Nous avions été amenés à choisir ce muscle pour les mêmes raisons que FRANK a choisi le long extenseur du 4è doigt chez la Grenouille : nécessité d'un petit muscle limitant les problèmes liés à la diffusion des ions dans les espaces extracellulaires. De plus, il nous était apparu qu'un muscle de la patte aurait une réponse de type rapide comparée au diaphragme.

Nous discuterons ces deux points au paragraphe V.

II- Solutions de survie.

Toutes les solutions ont été utilisées saturées par un mélange de 93% d'oxygène et de 7% de gaz carbonique (carbogène) soit à 20°C, soit à 37°C.

II-1. Milieu normal

Nous avons utilisé , soit la solution de LILEY
soit la solution de KREBS

Leur composition est donnée dans le tableau suivant :

KREBS				LILEY			
	mM		mM		mM		mM
Na^+	145	Cl^-	128,9	Na^+	149,8	Cl^-	147,8
K^+	5,9	HCO_3^-	26,2	K^+	5,0	HCO_3^-	12,0
Ca^{++}	2,6	HPO_4^-	1,2	Ca^{++}	2,0	HPO_4^-	1,0
Mg^{++}	1,2	SO_4^{--}	1,2	Mg^{++}	1,0		
		glucose	5,5			glucose	11,0

pour un litre de solution

Le pH des solutions utilisées, mesuré après chauffage et saturation était voisin de 7,3-7,4. D'autre part, nous avons ajouté à tous les milieux contenant du sodium, aussi bien pour l'enregistrement des potentiels d'action que de la réponse mécanique, du chlorure de d-tubocurarine, à la concentration de $0,6 \times 10^{-5}$ g/l. Cette adjonction de curare était faite de manière à éviter une stimulation éventuelle du muscle à partir des petits filets nerveux intramusculaires.

II-2. Milieux physiologiques modifiés.

II-2. 1. Solution où l'ion chlorure est remplacé par un autre anion : nitrate, bromure, iodure, thiocyanate, perchlorate.

Ces solutions sont préparées en substituant soit partiellement (indiqué par chaque ion par un pourcentage au chapitre résultats) soit complètement au chlorure de sodium un sel de sodium de l'ion à étudier : nitrate, bromure, iodure, thiocyanate et perchlorate de sodium.

II-2. 2. Solution contenant un cation métallique lourd : uranyle, zinc, cadmium, nickel.

Dans ce cas toutes les solutions ne comportaient pas de phosphate monosodique, qui était remplacé par du bicarbonate de sodium en quantité équimoléculaire aussi bien dans le milieu dit normal que dans le milieu à étudier. Ces ions, et en particulier le zinc, ont tendance, soit à précipiter, soit à être complexés par le phosphate (SANDOW et ISAACSON, 1966). La solution avant chauffage et saturation par le carbogène est alcaline et les ions métalliques lourds précipitent facilement. Nous avons donc toujours chauffé

Figures 28 et 29 - ALVARADO-MALLART (1973).

Réactions histochimiques caractérisant les différents types de fibres des muscles diaphragme (D) et lombrical (L). (x 350)

a - ATPase myofibrillaire à pH 9, 4

b - ATPase myofibrillaire après pré-incubation acide à pH 4, 35

c - NADH-tétrazolium-réductase (enzyme déshydrogénase dans les mitochondries localisée).

Figure 28 - Noter que dans le muscle diaphragme 3 types de fibres sont distinctes.

-Grosses fibres à faible activité déshydrogénase et à forte activité ATPasique, dont la coloration s'inverse à pH acide (fibres blanches, B).

-Fibres à forte activité déshydrogénase et forte activité ATPasique, dont la coloration est négative à pH acide (fibres intermédiaires, I).

-Fibres à forte activité déshydrogénase et à faible activité ATPasique dont la coloration est très intense après pré-incubation acide (fibres rouges, R).

Figure 29 - Le muscle lombrical ne comporte que deux types de fibres.

A faible activité déshydrogénase et forte activité ATPasique (négative après pré-incubation acide (fibres blanches, B).

Un petit nombre de fibres à forte activité déshydrogénase et faible activité ATPasique (coloration intense à pH acide) (fibres rouge, R).

Figure 28

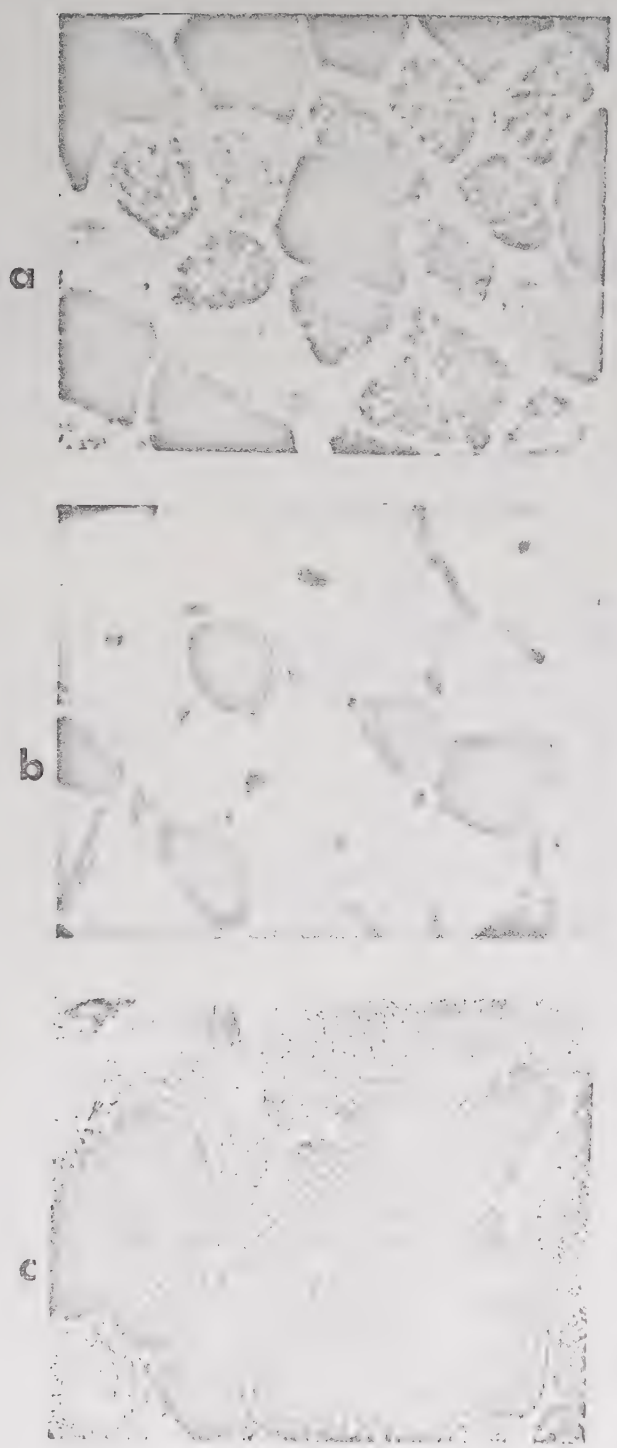
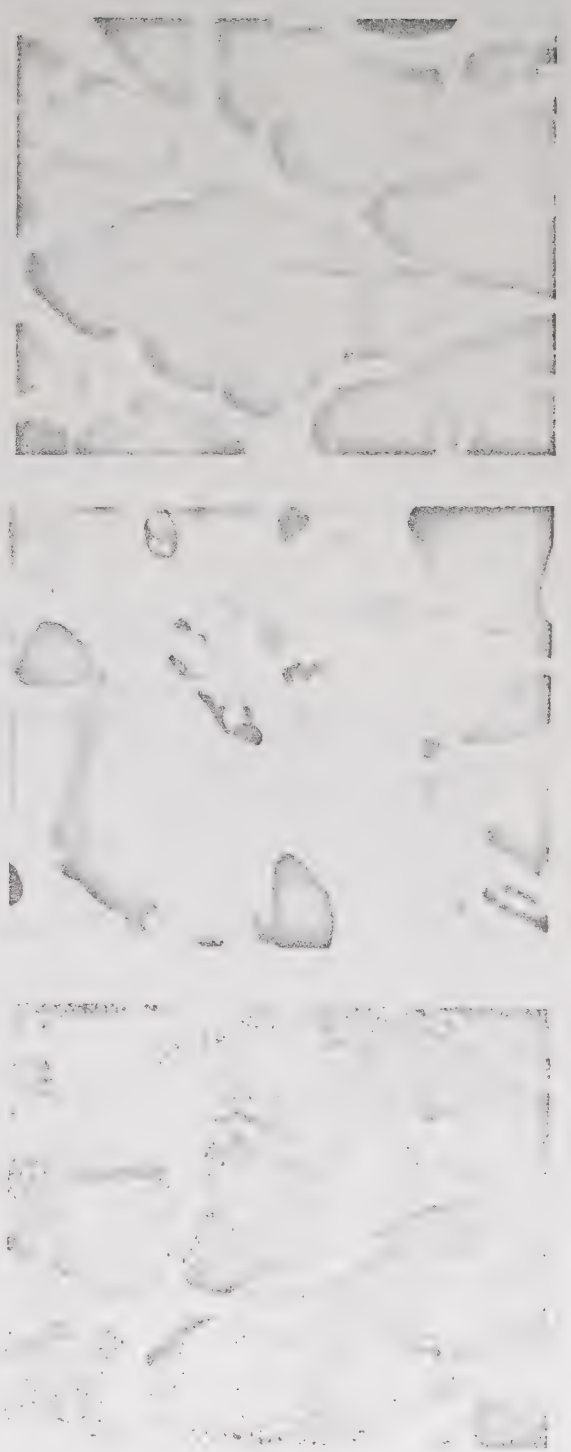


Figure 29



et saturé nos solutions de manière à éviter cet ennui avant d'ajouter l'ion à étudier, en solution concentrée (10 ml pour 1 litre de solution finale). Ces solutions mères sont réalisées à partir des sels suivants : acétate d'uranyle, chlorure de zinc, de cadmium et de nickel, à une concentration variable selon l'ion considéré de manière à obtenir après dilution la concentration expérimentale choisie, allant de la fraction de mole à la millimole par litre.

II-2.3. Solution sans sodium pour l'étude des contractures.

Dans les solutions utilisées nous avons remplacé le chlorure de sodium par le chlorure de choline que ce soit dans le milieu dit normal ou dans le milieu modifié. Dans le cas des anions nous avons remplacé le chlorure de choline soit par le sel de choline correspondant lorsque ce dernier était soluble : nitrate de choline, bromure de choline, soit par le sel de sodium correspondant lorsque l'ion était utilisé à faible dose : cas du perchlorate et du thyocyanate (moins de 5%).

Les contractures étaient obtenues en élevant la concentration du milieu en potassium par des mélanges d'une solution riche en potassium et de la solution physiologique. Nous avons utilisé pour ce faire soit une solution de chlorure de potassium isotonique (159mM/l pour le LILEY, soit 154mM/l pour le KREBS), soit parfois une solution de sel de potassium de l'anion étudié : nitrate, bromure, iodure de potassium. Avec ces diverses solutions nous n'avons pas observé de différences significatives entre les résultats.

III - Dispositifs électro-mécaniques.

III-1. Dissection de la préparation.

De manière à isoler les muscles à étudier dans de bonnes conditions, l'hémidiaphragme ou la patte arrière-gauche du Rat étaient placés dans une cuve à dissection contenant une assez grande quantité de solution maintenue à 37° par une circulation d'eau chaude. De plus, cette solution était constamment oxygénée par du carbogène. La dissection était réalisée sous l'objectif d'une lampe binoculaire BBT (KRAUSS) grossissement 16, de manière à ôter le maximum de conjonctif et même parfois de tissu graisseux sans léser de fibres musculaires. De là, le muscle était transféré dans la cuve d'expérimentation.

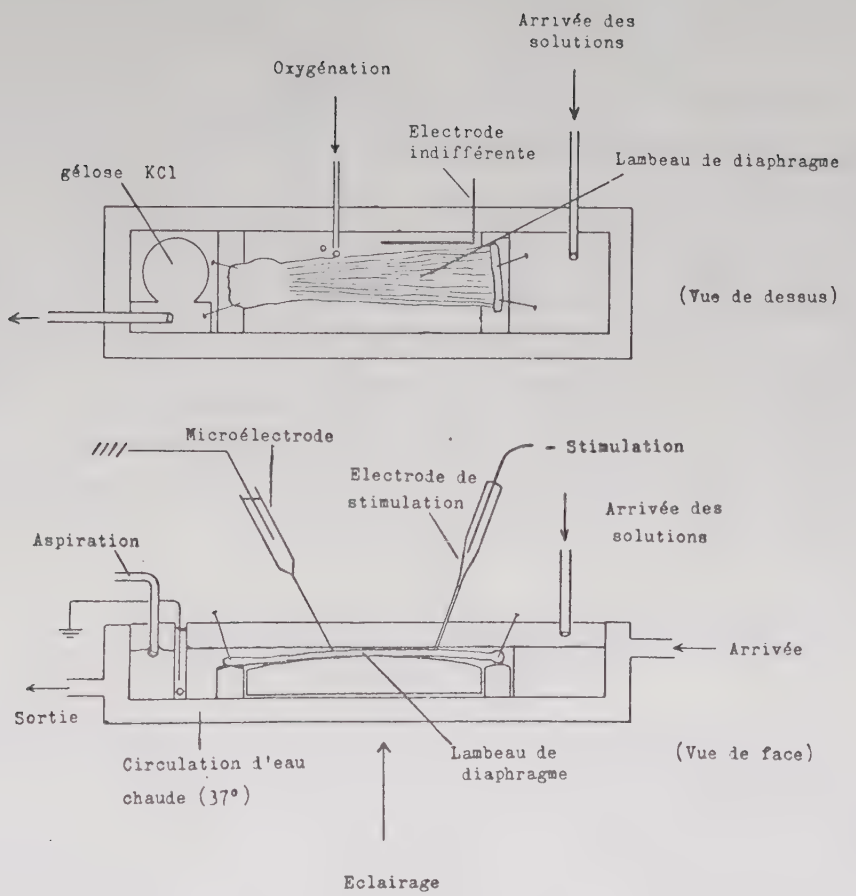


Figure 30 - Technique d'enregistrement des potentiels d'action des fibres du diaphragme de Rat à l'aide de microélectrodes intracellulaires.

III-2. Enregistrement du potentiel d'action.

III-2. 1. Cuve expérimentale (figure 30, page précédente).

La préparation, ici un lambeau de plusieurs millimètres de large de diaphragme est placée, face pleurale au-dessus, dans une cuve en plexiglas à fond bombé. Cette cuve est entourée d'une jaquette à circulation d'eau chaude à 37°C, de manière à maintenir constante la température du muscle. La jaquette de la cuve est aussi en plexiglas, permettant d'éclairer la préparation par transparence. Les solutions sont brassées par un courant de carbogène, et circulent en permanence de sorte que le muscle baigne dans une solution constamment renouvelée. Le lambeau est fixé par des épingles sur deux blocs de caoutchouc et tendu convenablement. La préparation est observée à travers une lampe binoculaire (grossissement 80) en particulier pour la mise en place des électrodes.

III-2. 2. Electrodes de stimulation.

Le stimulus est appliqué à la préparation, par l'intermédiaire d'une unité d'isolement HF, au moyen de deux électrodes. C'est une impulsion de courant brève rectangulaire, dont on peut modifier l'intensité et la durée, fournie par un stimulateur électronique STIIC (Equipements Industriels). La cathode est un cathéter de polyéthylène étiré, rempli de solution de KREBS, immobilisée par de la gélose, et dans lequel plonge un fil d'argent chloruré. L'extrémité de ce cathéter est amené au contact des fibres musculaires au moyen d'un micromanipulateur de MONCHABLON. L'intensité de la stimulation est réglée de manière à ne stimuler qu'un petit nombre de fibres, voire même une seule. L'autre électrode est constituée par un fil d'argent chloruré plongé dans le bain près de la préparation (anode diffuse).

III-2. 3. Electrodes de réception.

Les électrodes de réception sont des micropipettes obtenues par étirage mécanique à chaud de tube pyrex de 2 à 3 mm de diamètre par l'appareil de MAMBRINI (1964). Elles sont remplies d'une solution de KCl 3M, par ébullition sous vide. Leur résistance est alors mesurée. Les fibres du diaphragme étant très fines, il est nécessaire d'utiliser des microélectrodes de résistance supérieure à 12 MΩ, ce qui permet d'estimer le diamètre de l'extrémité à environ un demi-micron. La micropipette est reliée au dispo-

sitif d'enregistrement (adaptateur d'impédance) par un fil d'argent chloruré plongeant dans la solution de KCl. L'électrode de référence est formée d'un fil d'argent chloruré immergé dans un petit récipient contenant du KCl 3M, mis en relation par un pont de gélose avec la solution baignant la préparation.

III-2. 4. Amplification et enregistrement.

Le premier étage du circuit d'amplification était un adaptateur d'impédance type "cathode-follower", à transistor à effet de champ (J. CHEVAL, 1966) possédant les caractéristiques suivantes :

-impédance d'entrée supérieure à 10 000 MΩ
-courant de fuite à l'entrée de l'ordre de 6 pA
-bande passante : 20 KHZ pour une microélectrode de 15 MΩ
-gain 0,95.

Cette sonde était connectée directement à l'entrée d'une des voies d'un oscilloscope TEKTRONIX 502 A.

Les enregistrements photographiques ont été faits sur film de 35mm.

III - 3. Enregistrements mécaniques.

Tous ces enregistrements ont été réalisés dans des conditions isométriques, soit au moyen d'un transducteur mécano-électrique (triode tensiométrique RCA 5734) jusqu'en 1968, soit, à partir de cette date, au moyen d'un capteur à jauge de contrainte au silicium (CHEVAL, 1968) que nous avons modifié avec la collaboration de M. PELNARD-CONSIDERE. Les deux jauges étaient isolées à partir d'une tête de pick-up (EUPHONICS UP 15-14) et montées dans une petite pièce entre leurs contacts, de manière à être maintenues de façon rigide, ce qui n'est pas le cas du montage d'origine, et facilement changées en cas de détérioration de l'une d'entre elles. Sur une des deux jauges est fixée une aiguille où le muscle vient s'attacher, la résistance de cette jauge varie avec la déformation que lui impose le muscle en contraction et permet l'enregistrement de la tension. La deuxième jauge permet d'éliminer les variations de résistance dues en particulier aux variations de température (équilibrage du pont de WHEATSTONE). Il faut, d'autre part, isoler les jauges de l'éclairage ambiant. Le

schéma de la figure 31 rend aussi bien compte de l'enregistrement mécanique par l'une ou l'autre méthode.

III-3. 1. Enregistrement de la secousse et du tétanos (figure 31a).

Le lambeau de diaphragme était fixé à l'extrémité costale soit par une serre-fine solidaire de la cuve, soit par un noeud de fil de nylon autour d'un anneau fixé à la paroi de la cuve, cette fixation servant aussi bien au lombrical. L'autre extrémité tendineuse des muscles était attachée par un fil de nylon autour de la tige mobile du transducteur. Nous avons utilisé deux types de cuve selon la technique de maintien de la température : soit celle identique à la précédente avec circulation d'eau chaude dans une jaquette, soit chauffage d'un bain-marie entourant la cuve par une résistance électrique plongeante isolée, avec régulation automatique par une thermistance YSI THERMISTOR. Ce dernier montage évitait les vibrations mécaniques dues au fonctionnement du THERMOMIX alimentant la jaquette et à la circulation de l'eau dans cette dernière.

III-3. 2. Enregistrement des contractures au potassium.

Nous avons utilisé deux dispositifs expérimentaux différents. La figure 31b schématise le premier dispositif utilisé dans le cas du lambeau de diaphragme. Dans le second cas, nous avons repris le montage utilisé pour l'enregistrement de la secousse, il suffisait alors d'ôter les électrodes de stimulation. Nous avions en effet à l'entrée de la cuve un robinet à 3 voies permettant de changer très vite de solution et d'injecter rapidement la solution de KCl au moyen d'une seringue.

Le muscle était alors disposé horizontalement. Ce montage a particulièrement été utilisé dans le cas du lombrical. Les enregistrements étaient réalisés, soit au moyen d'un enregistreur à plume BECKMAN, soit au moyen de l'oscilloscope et enregistrés sur film POLAROID.

III-4. Applications d'étirements et relâchements brefs pendant la contraction.

III-4. 1. Technique appliquée à Orsay.

Une première série d'expériences a été réalisée en utilisant le dispositif décrit par la figure 32. Une extrémité du muscle, placé hori-

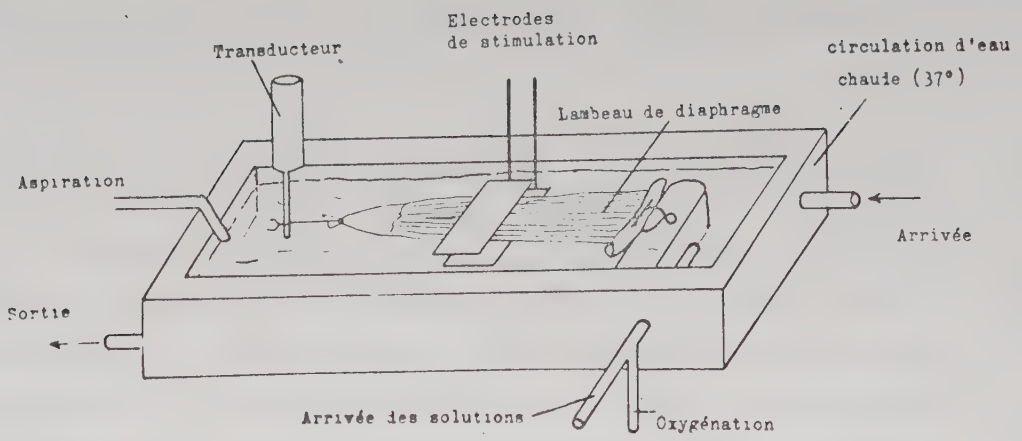
zontalement, était attachée à la tige solidaire de la jauge de contrainte (enregistrement de la tension). L'autre extrémité était fixée par un noeud à un fil de nylon de gros diamètre solidaire de la palette d'un relais électromagnétique. La longueur du muscle et la longueur de l'étirement étaient mesurées par observation du muscle à l'aide d'un oculaire micrométrique. L'étirement pouvait être modifié en modifiant la distance séparant l'extrémité du muscle de son point d'attache sur la palette mobile, à l'aide d'une vis micrométrique. Nous n'avions pas de système amortisseur des oscillations produites lors des changements de longueur. Le fonctionnement du relais était commandé par un stimulateur couplé à un deuxième stimulateur permettant d'exciter la préparation. Toutefois nous n'avions pas de mesure exacte du délai existant entre l'impulsion de stimulation et le début de l'étirement, ni de mesure exacte de la vitesse d'étirement. Nous enregistrions les variations de tension du muscle en réponse aux variations de longueur imposées au repos et en activité.

III-4. 2. Technique appliquée à Louvain.

Les autres séries d'expériences ont été réalisées au laboratoire de Physiologie générale de l'Université de Louvain, grâce à l'obligeance du Professeur MARECHAL.

Le muscle était placé verticalement dans une cuve contenant environ 300 ml de solution, immergée dans un bain-marie à circulation d'eau chaude, alimentée par un THERMOMIX. La solution était traversée par un flux de carbogène réchauffé dans le bain-marie. Le muscle était fixé par une pince sur le bâti plongeant dans la cuve. extrémité costale du diaphragme, et, à l'autre extrémité tendineuse par un noeud serré à une chaînette accrochée à l'extrémité de la lame métallique sur laquelle était collée la jauge de contrainte. Cette jauge est formée d'un fil résistant replié, dont les variations de longueur, du fait des déformations de la lame dues à la traction du muscle, entraînent des variations de résistance qui, convenablement amplifiées permettent de suivre les variations de tension du muscle. Cette jauge était elle-même solidaire d'un relais électro-magnétique permettant d'étirer ou de raccourcir le muscle à volonté. Le long du muscle était placée une grille d'électrodes reliées alternativement aux pôles positifs et négatifs d'une série de condensateurs. L'enregistrement était réalisé sur papier sensible aux ultra-violets au moyen d'un oscillographe galvanométrique (OSCILLOSCRIPT) à plusieurs pistes permettant d'enregistrer simultané-

a



b

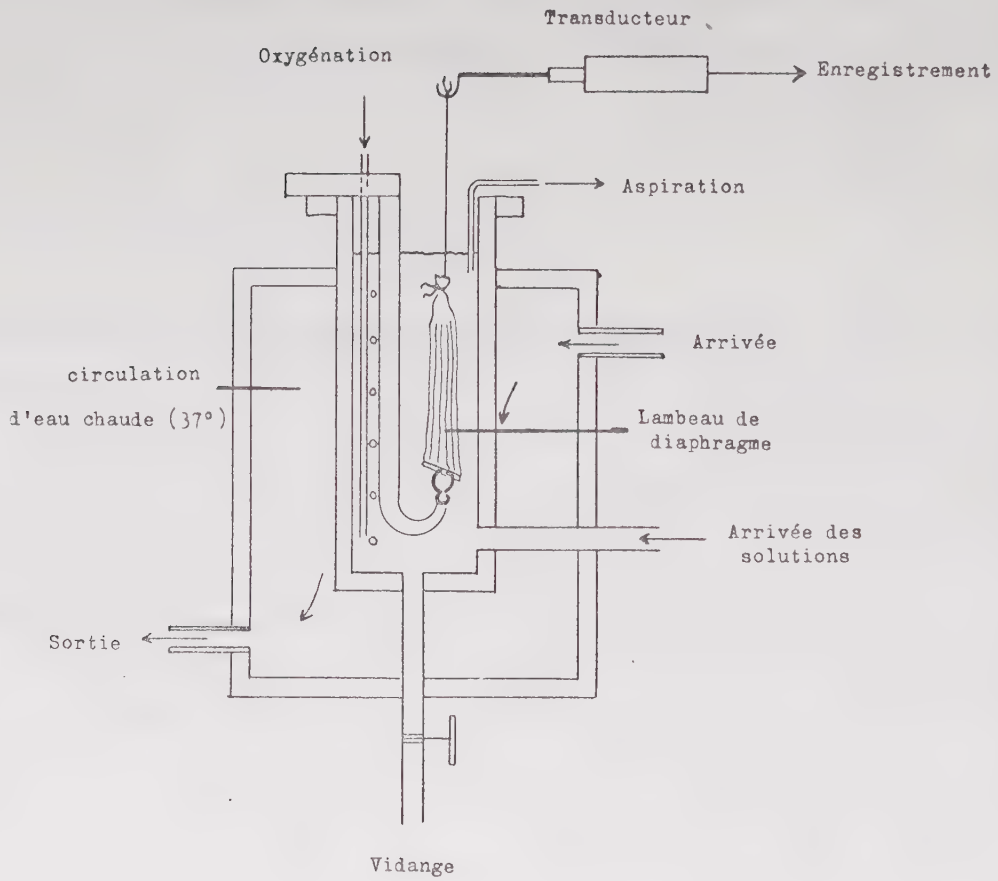


Figure 31a et b - Schématisation de la technique d'enregistrement de la réponse mécanique du muscle.

En a : enregistrement de la secousse et du tétanos,

En b : enregistrement des contractions par application de KCl.

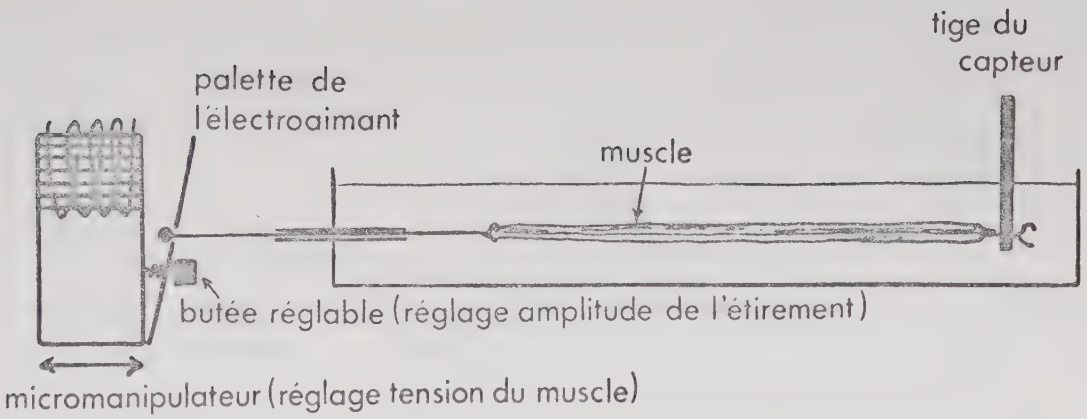


Figure 32 - Schématisation de la technique d'enregistrement de la tension pendant un "étirement rapide" ; technique utilisée au laboratoire d'Orsay.

ment la stimulation électrique, les changements de longueur et la tension fournie par le muscle. L'ensemble était piloté par un programmeur permettant de choisir et de déterminer avec précision les diverses étapes de la séquence expérimentale. La variation de longueur maxima possible était de 4,4 mm et la vitesse à laquelle cette modification de longueur était appliquée était réglable et nous avons utilisé la plus rapide, soit 7,22 cm/sec^{-1}.

IV- Choix des paramètres expérimentaux et interprétation des données.

Les mensurations sur les tracés photographiques ont été faites à partir des projections réalisées au moyen d'un agrandisseur photographique. L'amplitude des contractures a été mesurée directement sur les tracés fournis par l'enregistreur à plume. De même, les mesures des tensions enregistrées sur papier sensible OSCILLOSCRIPT ont été mesurées directement sur les tracés.

La dispersion des mesures est indiquée dans le texte, les tableaux et les graphiques par l'erreur standard de la moyenne.

IV-1. Potentiels de repos et d'action du muscle (figure 33).

Au cours de l'expérimentation, nous avons évalué directement sur l'écran de l'oscilloscope la valeur du potentiel de repos de la membrane au moment de la pénétration de la microélectrode. D'autre part, nous avons mesuré cette valeur sur l'enregistrement photographique à partir du potentiel de référence enregistré avant chaque pénétration. La moyenne des potentiels de repos enregistrés sur le diaphragme de Rat se situait autour de 60 à 65 millivolts. Après stimulation directe de la fibre musculaire nous avons enregistré des variations de potentiel de 80 à 90 millivolts, potentiels d'action avec un overshoot de 10 à 20 millivolts.

Les différentes valeurs des durées relevées sur un agrandissement des enregistrements photographiques des potentiels d'action sont représentées schématiquement dans la figure 33.

- Valeur de la durée totale du potentiel d'action (D). Sa mesure est rendue parfois difficile du fait de la présence d'un potentiel consécutif négatif parfois très allongé.

- Valeur de la durée de la phase ascendante de la pointe (dA).

Ne pouvant mesurer la durée totale du fait de la présence en par-

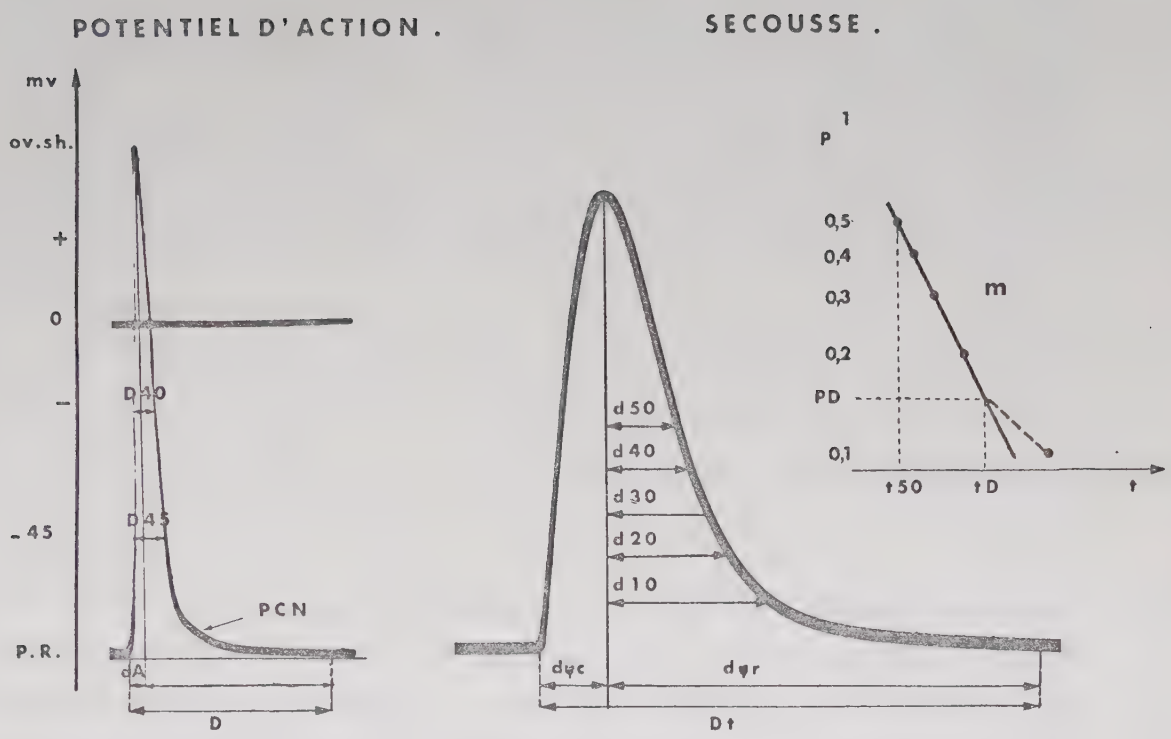


Figure 33 - Représentation schématique des divers paramètres utilisés pour caractériser la réponse électrique et mécanique du muscle de Mammifère.

ticulier du potentiel consécutif négatif, nous ne pouvions a fortiori mesurer la durée de la phase descendante du potentiel d'action. Aussi avons-nous eu recours à deux mesures : la première, valeur de la durée comprise entre les phases ascendante et descendante, se situe au niveau de potentiel -45 millivolts au-dessous du potentiel zéro de référence ; l'autre au niveau -40 millivolts comptés à partir du potentiel de pointe. Si nous reportons ces valeurs sur le schéma théorique de SANDOW (figure 9) représentant les relations électromécaniques, nous voyons que le potentiel -45 millivolts se situe en gros au niveau du seuil mécanique de dépolarisation (la valeur -50 mV est celle de ce seuil chez la Grenouille), alors que le potentiel -40 mV sous la pointe se situe à peu près au niveau du seuil de saturation mécanique. Cette deuxième valeur ne tient pas compte du potentiel de référence enregistré lequel peut être parfois entâché d'erreur, les potentiels d'extrémité des électrodes n'ayant pas été systématiquement contrôlés dans nos expériences. Du fait de la variabilité du potentiel de pointe, cette dernière mesure n'offre pas non plus une sécurité absolue. Mais l'utilisation de ces deux critères nous renseigne bien sur les modifications apportées à la durée mécanique efficace du potentiel de membrane active. Nous n'avons mesuré ni l'amplitude ni la durée du potentiel consécutif négatif, supposant avec SANDOW qu'il ne jouait aucun rôle dans les phénomènes de renforcement de la secousse, mais ceci sera discuté avec les résultats.

Enfin nous avons vérifié pour chaque ion considéré qu'il n'apparaissait pas d'autorythmicité aux concentrations utilisées et pendant le temps de séjour en milieu substitué.

IV-2. Secousse et tétanos isométriques (figure 33).

Des enregistrements expérimentaux de la secousse et du tétanos nous avons tiré les paramètres suivants, dont l'interprétation fait l'objet du chapitre "Résultats". En premier lieu, les données habituelles de tension et de durée :

-amplitude de la tension de la secousse et de celle du tétanos isométrique,

-durée totale de la secousse (Dt), divisée en durée de la phase ascendante ou de contraction ($d_{\varphi}C$), et de la phase descendante ou de relaxation ($d_{\varphi}R$).

L'imprécision de la partie finale de la phase descendante ainsi que l'intérêt d'une analyse fine de sa partie exponentielle nous ont conduit non seulement à reporter le temps au bout duquel la tension a chuté de 50%,

mais encore à reporter les valeurs du temps au bout duquel la tension a chuté de 40, 30, 20 et 10% respectivement. Des graphiques donnant le logarithme de cette chute relative de tension en fonction du temps ont été systématiquement établis. Si la chute de tension est bien du type exponentiel on doit s'attendre à trouver des droites en coordonnées semi-logarithmiques (figure 26). De ces graphiques nous avons tiré les informations suivantes :

-pente de la droite (m) qui est la constante de vitesse de la chute de tension et qui, dans un système viscoélastique correspondrait au rapport $\frac{G}{\mu}$, G étant un coefficient de raideur et μ une viscosité (voir annexe viscoélasticité).

-temps à partir duquel commence le comportement de type exponentiel (t_{50}), le plus souvent égal à d_{50} (voir figure 33).

-temps et tension pour lesquels cesse le comportement de type exponentiel (P_D et t_D).

La tension résiduelle à chaque instant étant liée directement à la quantité de calcium libre présent, nous avons essayé de caractériser, à partir de ces informations, l'incidence des anions anormaux et des cations métalliques lourds sur le pompage du calcium par le réticulum (à ce propos voir D. K. HILL, 1972).

IV-3. Contractures provoquées par le KCl.

Le seul paramètre utilisé a été l'amplitude des contractures obtenues pour des concentrations croissantes en potassium. Nous avons reporté sur un graphique en ordonnée la valeur de la tension de la contracture et en abscisse, le logarithme de la concentration en potassium de manière à obtenir la courbe sigmoïde classique.

V-Activation mécanique maximale par l'ion K^+.

Un fait apparait nettement à l'examen de courbes figurant la tension de la contracture en fonction de la concentration en potassium ; en présence de KCl isotonique, la contracture en présence d'un agent potentiateur est beaucoup plus grande que celle enregistrée en milieu normal. La tension de cette contracture étant loin d'atteindre la tension maxima recueillie lors d'un tétanos isométrique. Bien que nous ayons utilisé de fins lambeaux de diaphragme, nous avons d'abord cherché à diminuer encore la taille de notre

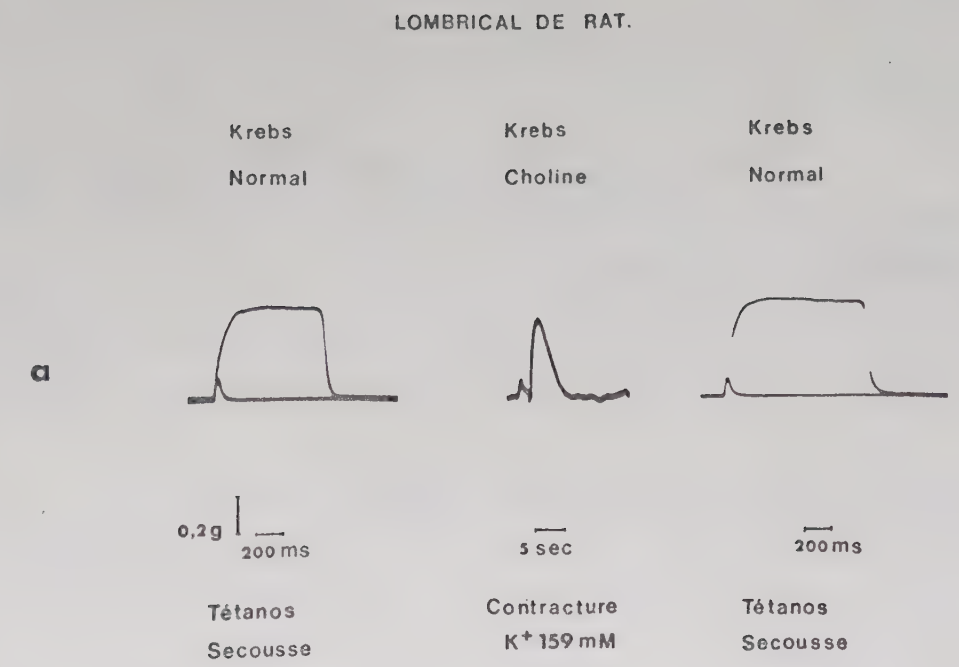
préparation. FRANK (1960) a en effet montré que si la contracture d'un muscle couturier de grenouille donnait une tension très inférieure à celle du tétanos, ces deux tensions étaient pratiquement identiques pour un muscle comportant un petit nombre de fibres tel l'extension longue digiti IV. L'interprétation de FRANK est la suivante : la contracture par dépolarisation au potassium n'est qu'un phénomène transitoire, si la dépolarisation est maintenue le muscle cesse de se contracter au bout de quelques dizaines de secondes. Lors de la diffusion du KCl dans les espaces extracellulaires, il est facile d'imaginer que les fibres superficielles ont cessé d'être actives alors que les fibres les plus profondes sont juste atteintes par le potassium. La réponse enregistrée est alors la résultante de réponses unitaires échelonnées dans le temps. ISAACSON, HINKES et TAYLOR (1970) utilisant des muscles de Rat (soléaire et extension long des doigts) se sont heurtés à la même difficulté. Nous avions espéré avoir trouvé avec le lombrical un muscle analogue à l'extensor longus digiti IV. Ainsi que nous l'avons déjà indique précédemment, en présence de KCl isotonique, la tension de la contracture atteignait au plus la moitié de la tension tétanique. Dans le cas du diaphragme elle est de 20% environ.

Nous avons pensé qu'en augmentant la concentration en ion K^+, la dépolarisation pourrait être réalisée de façon plus rapide et plus précoce au niveau des fibres les plus profondes.

On pourrait obtenir alors des contractures se rapprochant de la tension tétanique. Pour celà, nous avons utilisé des solutions de KCl dont la tonicité variait de 158 mM (isotonicité) à 318 mM.

Chez la grenouille, la réponse mécanique diminue en présence de telles concentrations et est abolie pour une pression osmotique égale à 2,5 fois la pression osmotique normale. Avec les muscles diaphragme et lombrical de rat, la tension de la contracture augmente régulièrement jusqu'à deux fois la pression osmotique normale (318 M KCl), puis baisse au-delà de cette valeur.

La valeur maximum de la contracture dans ces conditions n'atteint pas encore la tension tétanique bien qu'elle s'en approche davantage. Si le rôle de la diffusion du K^+ dans les espaces extracellulaires apparait dans ces expériences, elles restent d'interprétation délicate : la tension enregistrée étant la somme de tensions unitaires échelonnées dans le temps et consécutives à des dépolarisations différentes selon le siège de la fibre



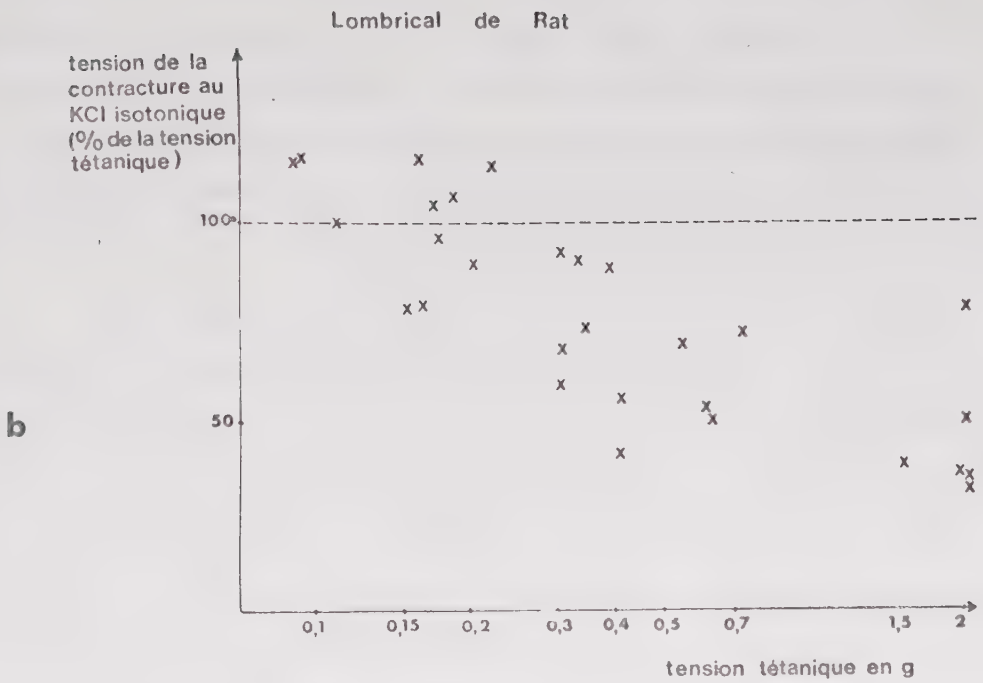


Figure 34 - a- enregistrement du tétanos isométrique et de la contracture provoquée par application de KCl isotonique d'un petit lambeau de lombrical de Rat à 37°C.

b - relation entre la tension de la contracture provoquée par application de KCl isotonique et la taille du lambeau de lombrical, représentée ici par la tension du tétanos isométrique.

considérée.

Nous avons donc été amené à réduire encore la taille de la préparation, seul paramètre sur lequel nous pouvions agir.

Nous avons disséqué des fins lambeaux de lombrical. Nous avons choisi d'évaluer la surface de section de ces lambeaux en mesurant leur tension tétanique maximale. En effet, au cours de la dissection, les fibres superficielles peuvent avoir été lésées, et ne plus être fonctionnelles. Les mensurations de section ou l'évaluation de cette dernière à partir du poids des lambeaux, ne pouvaient nous renseigner exactement. Le lombrical entier produit une tension tétanique de 2g environ. Les lambeaux les plus fins utilisés produisaient une tension tétanique de 100 mg. Dans ce cas, les deux tensions : celle de la contracture et celle du tétanos deviennent égales. Nous avons donc représenté la variation de la tension de la contracture en fonction de la taille du lambeau de lombrical (figure 34). Nous voyons que pour des lambeaux deux fois plus importants, la tension de la contracture commense à chuter, d'autant plus que le lambeau est plus gros.

Nous pouvons donc conclure que le retard du à la diffusion du potassium dans les espaces extracellulaires est responsable du déficit de la tension de la contracture par rapport à la tension tétanique. Ce retard dû à la diffusion est vraisemblablement lié aux caractéristiques morphologiques du muscle de Mammifère (nombre de fibres par unité de section plus élevé, dimensions de l'espace extracellulaire).

Cette étude de l'activation mécanique maximale lors de la dépolarisation par le potassium nous permet donc l'analyse des modifications apportées au seuil mécanique de dépolarisation en présence des agents renforçateurs sur le muscle entier (lombrical) ou le lambeau de diaphragme.

Nous n'avons donc pas estimé nécessaire de reprendre l'ensemble de l'expérimentation avec de fins faisceaux d'une utilisation techniquement difficile. Les conclusions concernant les variations du seuil mécanique restent donc valables même si nous n'atteignons pas les valeurs les plus élevées de la dépolarisation membranaire.

———— 0 ————

CHAPITRE IV

RESULTATS

I - Exposé chronologique de l'expérimentation.

Nous allons d'abord rapidement retracer la marche de notre travail telle qu'elle s'est déroulée au cours de ces dernières années. En effet, par souci de clarté de l'exposé, nous avons regroupé des expériences qui furent faites à des époques différentes.

Nos premières expériences utilisèrent des lambeaux de diaphragme de Rat à 37°C : expériences de contractures provoquées par le KCl en présence d'anions anormaux. Nous constatâmes une similitude de réponse entre le diaphragme de Rat et les muscles de Grenouille utilisés par SANDOW en particulier. Nous poursuivîmes par l'étude du renforcement de la secousse et des modifications apportées au potentiel d'action. Deux faits apparurent dès cette première série : le renforcement dans le cas du muscle de Rat était moins important que chez la Grenouille, et d'autre part, les contractures obtenues par le potassium isotonique étaient loin d'atteindre la tension tétanique, mais fondamentalement, le comportement des muscles des deux espèces étaient identiques (CHEVAL, PRZYBYSLAWSKI et REISS, 1967).

Nous avons poursuivi notre investigation en étudiant l'action des potentiateurs du type B de SANDOW, c'est-à-dire le zinc, l'uranyle, etc... toujours sur le diaphragme de Rat. De même que pour les potentiateurs du type A, le renforcement de la secousse était moindre et l'amplitude des contractures au potassium faible. Mais, en présence d'uranyle en particulier, si nous observions une tension de la secousse augmentée, la durée de la phase ascendante de la secousse (temps mis pour atteindre la contraction maximum) était, soit identique, soit légèrement raccourcie, fait nouveau et important (PRZYBYSLAWSKI, REISS et DANET, 1968).

Nous nous sommes attachée à résoudre le problème posé par les contractures au potassium. En premier nous avons utilisé des solutions hypertoniques qui nous amenèrent à relier la petitesse des réponses au temps mis par le potassium à diffuser dans les espaces extra-cellulaires. Nous avons alors suivi la démarche de FRANK (1960) et nous avons cherché un petit muscle qui pourrait être l'homologue de l'extensor longus digiti IV. Nous

trouvâmes les petits muscles lombricaux de la patte et nous reflmes sur ce muscle l'étude des contractures et en présence des divers ions étudiés. Là, apparurent des différences de comportement entre diaphragme et lombrical (REISS et PRZYBYSLAWSKI, 1969).

Deux voies s'ouvraient à nous. La première, celle des contractures, nous l'avons rapidement abandonnée après avoir mis en évidence le rôle primordial joué par les phénomènes de diffusion, en expérimentant sur des faisceaux de quelques dizaines de fibres (REISS et PRZYBYSLAWSKI, 1970).

La seconde, celle des différences de comportement entre les deux muscles, lombrical et diaphragme, a retenu toute notre attention. Nous avons tenté de les relier à des différences probables de morphologie (différence dans le spectre des différentes fibres qui les composent).

D'autre part, nous avons cherché à définir le niveau probable d'action de ces ions, membrane, tubules, pénétration à l'intérieur de la fibre. Nous avons cherché à le mettre en évidence en utilisant de fins faisceaux sous l'action du zinc (REISS, PRZYBYSLAWSKI et CHEVAL, 1971).

Nous avons alors repris l'étude de l'uranyle en particulier, et nous nous sommes attachée à étayer l'hypothèse que nous avions émise en 1968, d'une activation modulable chez le muscle de Mammifère, différente de la Grenouille pour qui HILL (1949) avait postulé un passage brusque de l'état de repos à l'état d'activité maximal, lors de la secousse. Nous avons alors repris le protocole expérimental de HILL, et appliqué des étirements brefs à nos deux muscles. Nous constatâmes qu'à 37°C, le diaphragme ne pouvait fournir qu'une fraction de la tension tétanique (PRZYBYSLAWSKI, REISS et BENOIT, 1971).

Nous poursuivîmes ce type d'expérimentation à Louvain, sur un appareillage perfectionné, grâce à l'obligeance du Professeur MARECHAL. Comme nous le verrons, cette expérimentation vint encore renforcer notre hypothèse.

Enfin, nous avons étudié, selon les besoins expérimentaux du moment, le comportement en milieu normal de ces deux muscles, en faisant varier un certain nombre des paramètres expérimentaux telles la longueur ou la température. De même c'est en dernier lieu que nous avons soumis le lombrical à l'action des anions anormaux, complétant ainsi notre première

expérimentation.

La lecture de ce travail sera facilitée par un exposé du comportement dit normal du muscle en premier, puis nous aborderons les modifications apportées par la présence des deux types d'ions renforçateurs : anions anormaux et cations métalliques lourds. Nous terminerons en relatant les expériences de relâchements et étirements brefs et les réflexions et hypothèses sur le fonctionnement du muscle de Mammifère comparé au muscle de Grenouille, permises grâce à la dernière théorie de la contraction de HUXLEY et SIMMONS (1972).

II - Renforcement de la secousse sous l'action des anions, nitrate, bromure, iodure, thiocyanate et perchlorate.

II-1. Rappel du protocole expérimental.

Le muscle, aussitôt après la dissection, est placé dans la cuve d'enregistrement ; nous attendons environ vingt minutes puis nous tétanisons le muscle deux fois ; nous pensons ainsi avoir éliminé la réponse des fibres qui auraient pu être lésées pendant la dissection.

Le contrôle du bon état de la préparation se fait par l'enregistrement régulier de tétanos, une chute de 10% de la tension tétanique en fin d'expérience est la variation maxima tolérée. Pour l'étude de chaque milieu, nous utilisons la séquence suivante : Enregistrement de la secousse isométrique maximale (intensité de stimulation supérieure de 50% à celle produisant la réponse maximale), puis tétanos suivi d'une secousse dix minutes après de manière à éliminer une éventuelle potentiation post-tétanique ; les séquences sont : milieu normal, puis milieu substitué et premier enregistrement dix minutes après le changement de milieu, puis retour en milieu normal.

II-2. Résultats.

II-2. 1. Augmentation de la tension de la secousse.

En présence de nitrate, substitué en totalité au chlore du milieu, nous notons une augmentation moyenne de tension de la secousse de 15%, moyenne de 10 mesures. En fait, cette valeur moyenne ne rend pas bien compte de l'effet de la substitution du nitrate, compte tenu de la variation de réponse d'une préparation à l'autre. Nous avons enregistré une augmentation de tension supérieure à 20% dans 4 cas avec un maximum de 29%. Comme on le

voit, il s'agit d'un renforcement très modéré de la tension.

Le bromure, substitué lui aussi en totalité au chlore du milieu, est plus efficace : sur 10 mesures nous avons une augmentation moyenne de 28%, avec 4 expériences où l'augmentation de tension est supérieure à 40% avec un maximum à 55%. Le taux de substitution, dans le cas de l'iodure, n'était que de 25%. Au dessus de cette concentration, le muscle présentait une augmentation notable de la tension de repos, raison qui nous a fait choisir cette concentration d'iodure. Il en sera de même pour chaque ion utilisé pour lequel nous avons choisi une concentration n'entrainant pas d'augmentation de la tension de repos. Pour 6 expériences, nous avons constaté une augmentation moyenne de tension de 31% avec un maximum de 42%. Dans deux cas, nous avons observé une chute de la tension en milieu iodure avec retour à une tension identique à celle enregistrée en milieu normal au début de l'expérience, après avoir ramené le muscle en milieu normal. De plus, dans un cas, figuré dans le tableau n° VI, expérience du 20-3-67, en présence de nitrate, on observe une augmentation de 21% de la tension, alors que l'iodure reste sans effet. Par contre, chez le lombrical, l'augmentation de tension de la secousse est plus grande : moyenne de 36,5% avec un maximum de 91%. Il est à noter d'autre part que l'accroissement de tension suit l'augmentation de la concentration en iodure : 19% pour une concentration de 10% en iodure, 91% pour 25% (renforcements maximaux).

Nous ne dissocions volontairement pas les deux muscles diaphragme et lombrical car les effets de ces ions sont analogues dans les deux cas.

Le thiocyanate n'a été substitué qu'à 2% au chlore du milieu. L'effet est minime sur la tension de la secousse : moyenne de 11% pour 9 mesures, le maximum étant de 17%. Pourtant, nous le verrons plus loin, à cette concentration, il modifie considérablement l'amplitude des contractures provoquées par le chlorure de potassium.

Enfin le perchlorate, très toxique, nous avons du utiliser le très faible taux de substitution de 0,5%. Au dessus de cette concentration, après une brève et spectaculaire augmentation de tension, on assiste à une chute brutale que le retour du milieu normal ne modifie pas sinon très lentement. L'accroissement moyen de la tension est de 34% chez le diaphragme, 6 mesures, avec un maximum de 76%. Dans le cas de lombrical, nous avons figuré dans le tableau n° V, une expérience où la concentration était de 2,5% : on peut voir que la modification de la tension est minime comparée aux deux au-

tres expériences décrites.

Les tableaux I à V contiennent l'ensemble des valeurs expérimentales d'une partie seulement des expériences réalisées. Nous avons du faire un choix, d'une part pour ne pas alourdir inutilement les résultats par la transcription d'expériences similaires, et d'autre part, pour mettre en valeur certaines expériences "négatives", c'est-à-dire où nous n'avons pas observé d'accroissement de tension, ce qui était le but de ce travail.

Bien que la tensi n ne soit pas modifiée dans ces cas, les autres paramètres le sont et viennent aussi contribuer à nous éclairer sur l'ensemble des phénomènes observés.

II-2. 2. Modifications apportées au développement et au relâchement de la tension de la secousse.

La durée de la phase de contraction de la secousse a été la première analysée. En présence des ions étudiés, elle est toujours allongée. Les valeurs moyennes de l'allongement sont : en présence de nitrate, de 22%, de 11% en bromure, de 18% en iodure, de 9% en thiocyanate et , de 19% en perchlorate. Si nous considérons les expériences pour lesquelles nous avons atteint une augmentation maxima de la tension, nous avons en parallèle un grand allongement de la durée de la phase de contraction ; en nitrate pour un taux de renforcement de 43% de la durée de la phase ascendante de la secousse est allongée de 50% ; de même en bromure 48% et 50% respectivement, 76% et 50% pour le perchlorate... La durée de la phase de contraction figure dans les tableaux I à V, sous le sigle $d_\gamma C$.

La durée totale de la secousse nous permet de nous rendre compte du ralentissement global de la réponse mécanique. Lorsque nous avons pu le mesurer, compte tenu des impératifs techniques, elle figure dans les tableaux sous l'inscrption Dt. Comme on peut le constater, elle est généralement allongée. Cette durée étant la somme du temps de contraction et du temps de relaxation, il nous a paru préférable de caractériser ce deuxième paramètre.

La phase de relaxation de la secousse peut se décomposer arbitrairement en deux phases : la chute de tension du maximum à 50%, puis la chute de 50% à la valeur de la tension de repos. La valeur de la durée de la chute à 50% de la tension nous renseigne sur la première phase. Cette valeur, bien que mesurée ne figure pas dans les tableaux. Elle est remplacée par la

valeur mesurée sur le graphique d'établissement de la pente de la deuxième phase et matérialisée par le sigle t_{50}. Ces deux valeurs sont très voisines. Aussi n'avons nous pas figuré la première. Nous constatons que cette valeur de durée est augmentée généralement en présence des divers ions.

A cet exposé des modifications apportées par chaque ion aux divers paramètres, classiquement étudié, nous allons examiner le comportement d'un certain nombre de muscles, il s'agit là du diaphragme seulement, à des modifications successives du milieu par divers ions. Les résultats sont groupés dans le tableau n° VI.

Un premier fait apparaît : si en premier nous faisons agir le nitrate, les autres ions deviennent inopérants sur la tension. Par contre, l'augmentation de durée de la phase ascendante se poursuit dans deux cas sur trois. Au contraire, si le bromure agit en premier, alors en présence du deuxième ion, nous observons encore une augmentation de la tension, alors que le retour en milieu normal a restauré les conditions de départ : ceci est valable dans le cas du nitrate et du thiocyanate.

L'expérience du 8-3-67 est très intéressante : le perchlorate a été utilisé entre deux temps de séjour en thiocyanate (il y a toujours un passage en milieu normal entre chaque séquence). Dans les deux cas, le thiocyanate n'a produit qu'une modification limitée, presque identique (+9,1 et 8,5%), alors que l'on note une action importante de perchlorate (44%). De même pour le 7-3-67, où le perchlorate agit en premier (76%) suivi du thiocyanate (11,1%).

Ces expériences comportant des séquences successives nous donnent une idée de la localisation de l'action des anions : le nitrate se fixe probablement sur les mêmes sites que le bromure. Par contre, le perchlorate et le thiocyanate agiraient sur des sites différents, De même en ce qui concerne le bromure et l'iodure, voir l'expérience du 15-3-67, où seul le bromure agit entre deux essais négatifs de l'iodure. Les figures 35 à 37 et figure n° 59 (NO_3) illustrent par la reproduction d'enregistrements expérimentaux, les modifications qu'apportent les divers anions à la réponse mécanique des muscles diaphragme et lombrical de Rat.

II-2.3. Modification apportée au potentiel d'action des fibres du diaphragme de Rat sous l'action des anions étudiés.

Le protocole expérimental a été décrit précédemment au chapi-

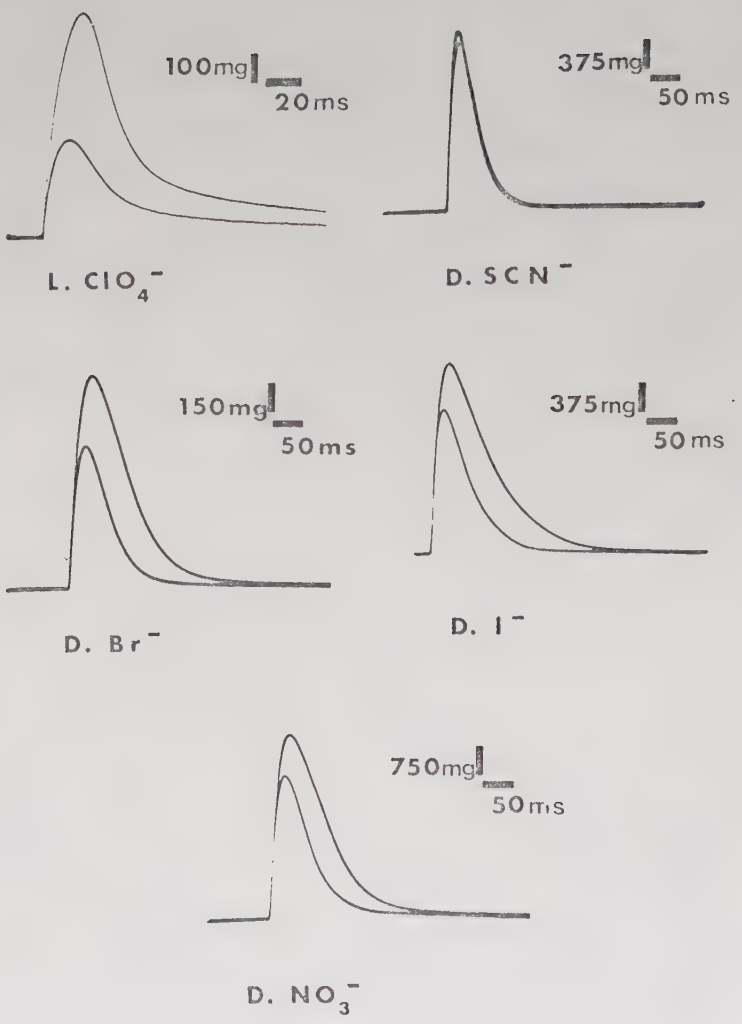


Figure 35 - Action de l'adjonction des anions NO_3^-, Br^-, I^-, SCN^- sur le muscle diaphragme de Rat, et ClO_4^- sur le muscle lombrical de Rat à 37°C. Tracés expérimentaux superposés : secousse isométrique maximale en milieu normal et en milieu substitué.

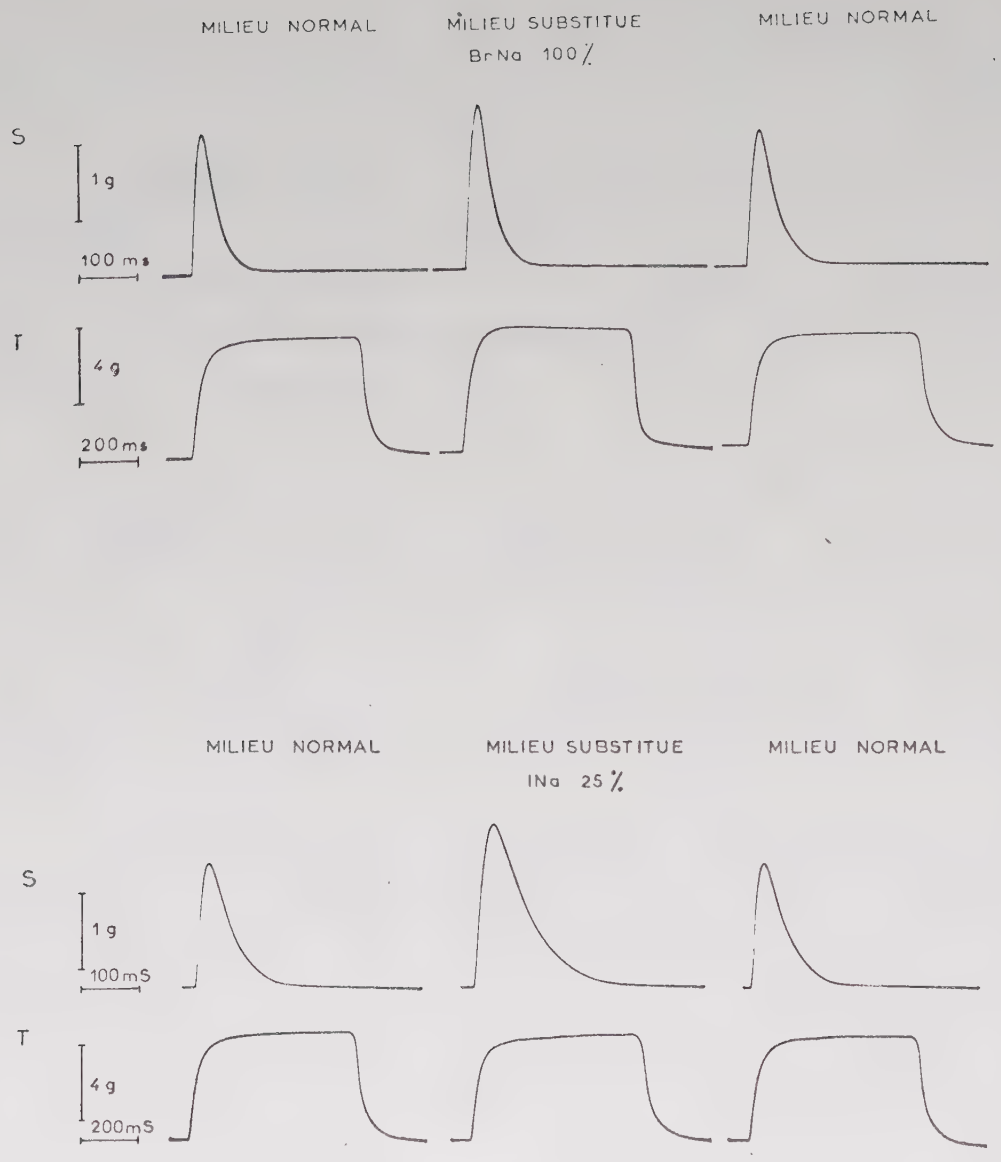


Figure 36 - Action du bromure et de l'iodure substitué au chlore du milieu de survie sur la secousse (ligne supérieure) et le tétanos (ligne inférieure) d'un lambeau de diaphragme de Rat (37°C).

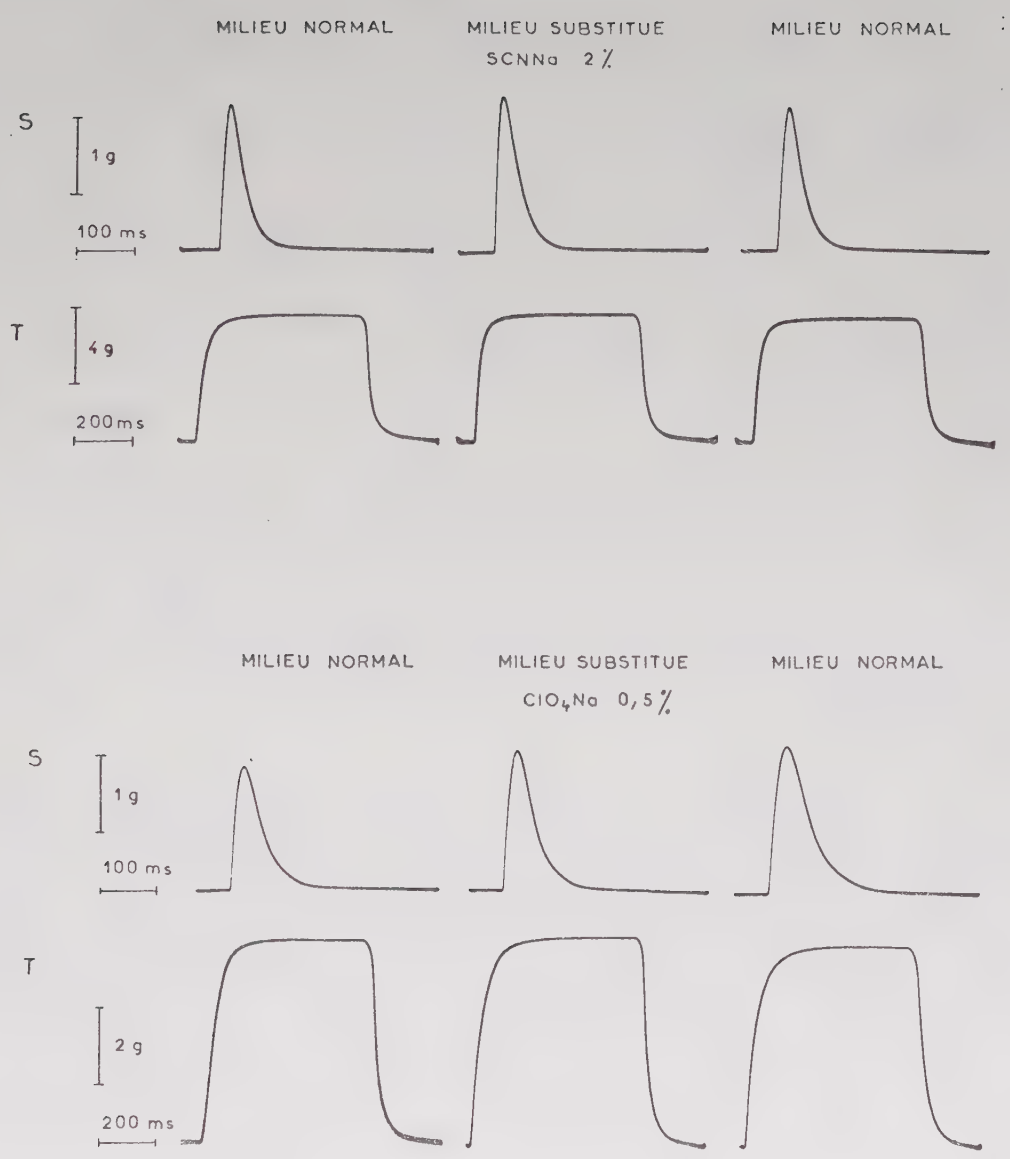


Figure 37 - Action du thiocyanate et du perchlorate ajouté au milieu de survie sur la secousse (ligne supérieure) et le tétanos (ligne inférieure) d'un lambeau de diaphragme de Rat (37°C).

tre des "Méthodes". Nous avons enregistré le potentiel de repos et le potentiel de membrane active après stimulation électrique directement. Le potentiel de repos ne varie pas de façon significative d'une expérience à l'autre ni en présence d'ion substitué : sa valeur moyenne est de 60 millivolts. Il s'agit ici des premiers enregistrements que nous avons effectués et depuis nous avons amélioré notre technique et obtenu de meilleurs enregistrements. Malgré tout, in vitro, nous n'avons jamais pu obtenir, comme c'est le cas in vivo, de potentiel de repos de l'ordre de 90 mV.

En présence d'un des anions étudiés, aux concentrations utilisées, nous n'avons observé aucune activité répétitive de la fibre après un stimulus unique, même en prolongeant le temps de séjour dans le milieu substitué au delà de trente minutes. Comme on peut le voir sur la figure 38, la forme générale du potentiel de pointe ne parait pas modifiée. En présence d'iodure, par contre, la durée du potentiel d'action, mesurée au niveau -40 -40 mV sous la pointe, est allongée. Dans le cas de la figure 38, cet allongement est de 50%. C'est la valeur la plus élevée que nous ayons observée. Chez la Grenouille, en présence des anions anormaux, le potentiel de pointe n'est pas modifié, un allongement maximum de 10% de la durée a été observé (SANDOW).

Par contre il apparaît un potentiel consécutif négatif, très net en milieu substitué alors qu'en milieu normal le retour à la polarisation de repos est rapide. Chez le Rat, l'amplitude de cette post-dépolarisation est moins grande en présence des anions anormaux que chez la Grenouille, mais du même ordre de grandeur en présence des cations divalents, de telles variations ne s'observent pas chez la grenouille. SANDOW, classiquement, n'attribue aucun rôle à ce potentiel consécutif négatif dans la génèse des phénomènes mécaniques. Dans le schéma de la figure n° 7 , il le situe au-dessous du seuil mécanique de dépolarisation dont le niveau a été défini par HODGKIN et HOROWICZ (1960), dans des conditions expérimentales bien déterminées : dépolarisation de longue durée. La discussion du rôle de cette post-dépolarisation sera reprise dans le cadre des modifications apportées au potentiel d'action par les cations divalents.

II-2. 4. Contractures provoquées par le potassium.

Les contractures ont été provoquées aussi bien par le chlorure que par le sulfate de potassium (5 expériences de chaque type par anion étudié). Nous n'avons observé aucune différence dans les réponses selon le sel

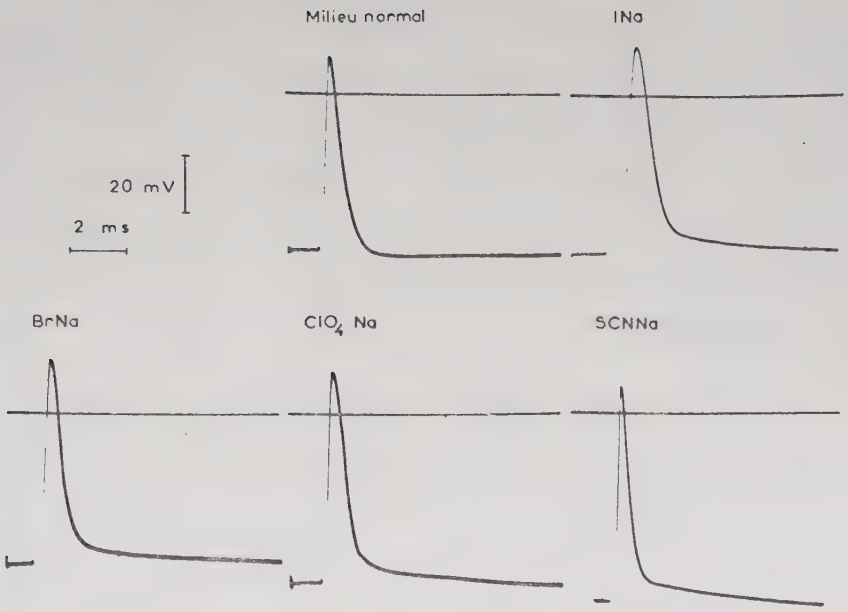


Figure 38 - Exemple de potentiels d'action de fibres de diaphragme de Rat isolé à 37°C.

En haut, à gauche : milieu normal, à droite en milieu iodure (substitué à 25% du chlore du milieu normal).

En bas, de gauche à droite : milieu bromure (substitué en totalité), perchlorate (0,5%), thiocyanate (2%). Le potentiel zéro a été matérialisé par la seconde trace de l'oscillographe.

de potassium utilisé. Chaque série de contractures à des concentrations croissantes de K est figurée par deux courbes, une en milieu normal et une en milieu substitué. Nous rappelon qu'en abscisses nous avons porté le logarithme de la concentration en potassium et en ordonnée la tension de la contracture mesurée par l'amplitude du sommet de cette dernière.

Les planches 39 à 43 illustrent l'action de chaque ion étudié. On voit que la courbe se déplace vers les faibles concentrations en présence de l'ion. Ceci est particulièrement net pour 16 mM de K^+ où la réponse est soit nulle, soit très faible en milieu normal. En présence d'iodure par exemple elle est multipliée par 10, de même en nitrate où elle est de 15 à 20 fois plus importante. Cet effet se poursuit nettement pour 32 mM de K^+. On peut donc conclure à un déplacement du seuil mécanique de dépolarisation vers les faibles dépolarisations.

D'autre part, nous constatons que pour une concentration en KCl isotonique nous n'atteignons pas la saturation mécanique. La contracture a une amplitude bien plus grande en milieu modifié qu'en milieu normal : en présence de nitrate elle est doublée dans 4 cas, en iodure de même. Par contre, en perchlorate on observe une chute de la tension, chute de 10% en moyenne. Nous pouvons relier cette chute à l'effet toxique pour le muscle du perchlorate. En effet, à la fin d'une séquence de contracture il s'est écoulé environ 1 heure et 20 minutes, temps suffisamment long pour que même à faible concentration de perchlorate, cet effet se manifeste.

Comme nous l'avons vu précédemment, les phénomènes de diffusion dans les espaces intra-cellulaires ne permettent pas d'atteindre les valeurs les plus élevées de la dépolarisation lors de l'augmentation de concentration en K^+, ce qui explique la croissance continue des courbes réponses et l'augmentation de tension du milieu substitué par la concentration en K^+ correspondant à l'isotonicité. Ceci se produit pour les deux muscles étudiés, mais nous pouvons conclure, malgré cela, à un déplacement du seuil mécanique vers les faibles dépolarisations en présence des anions anormaux.

II-2.5. Discussion des résultats apportés par la mesure des paramètres classiques du renforcement.

La description du comportement des deux muscles de Rat en présence des anions étudiés est analogue à celui des muscles de Grenouille (voir en particulier SANDOW).

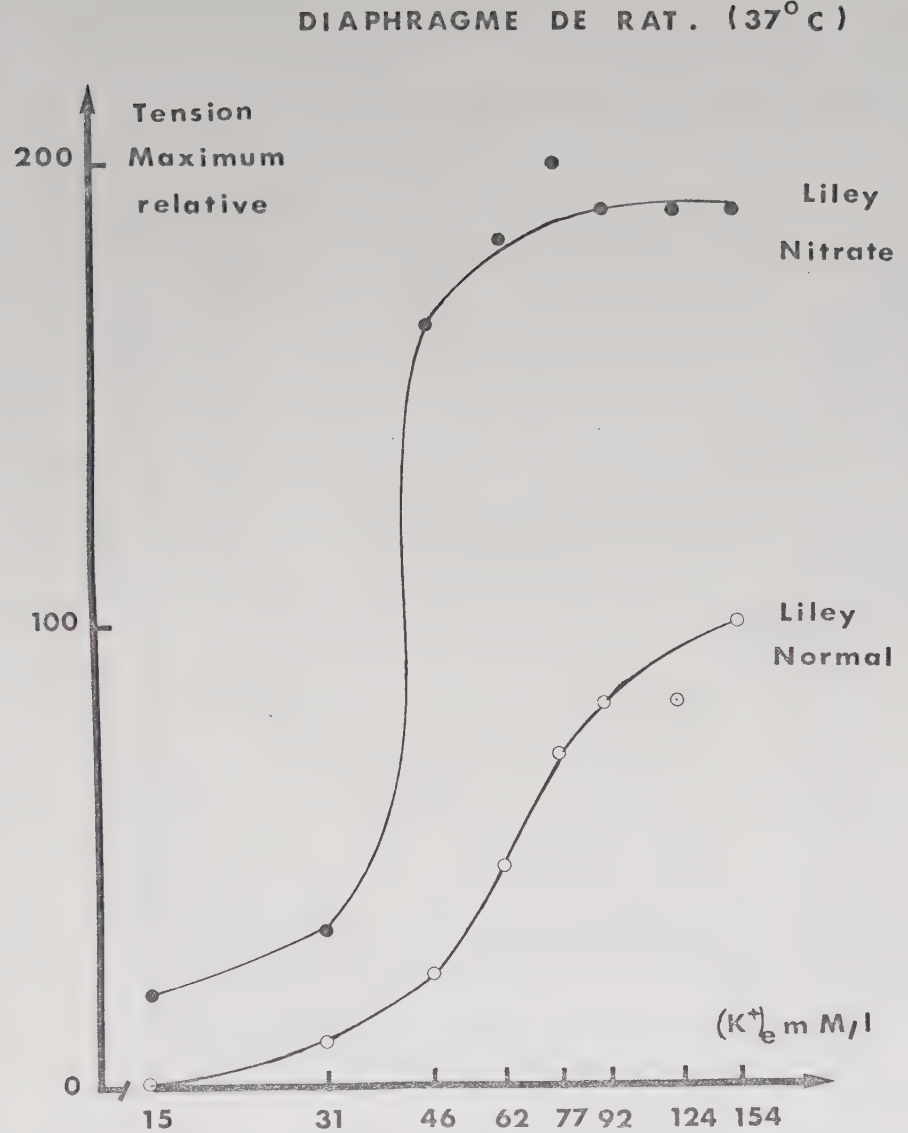


Figure 39 - Tension produite lors de contractures de dépolarisation provoquées par diverses concentrations de chlorure de potassium, en milieu dépourvu de sodium (normal) et nitrate (le nitrate a été substitué en totalité au chlore).

Abscisses : concentration en K^+ du milieu extérieur, échelle logarithmique.

Ordonnées : tension maximum des contractures en unités arbitraires (la tension maximum obtenue avec 154 mM/l de K^+, en milieu normal, est prise égale à 100).

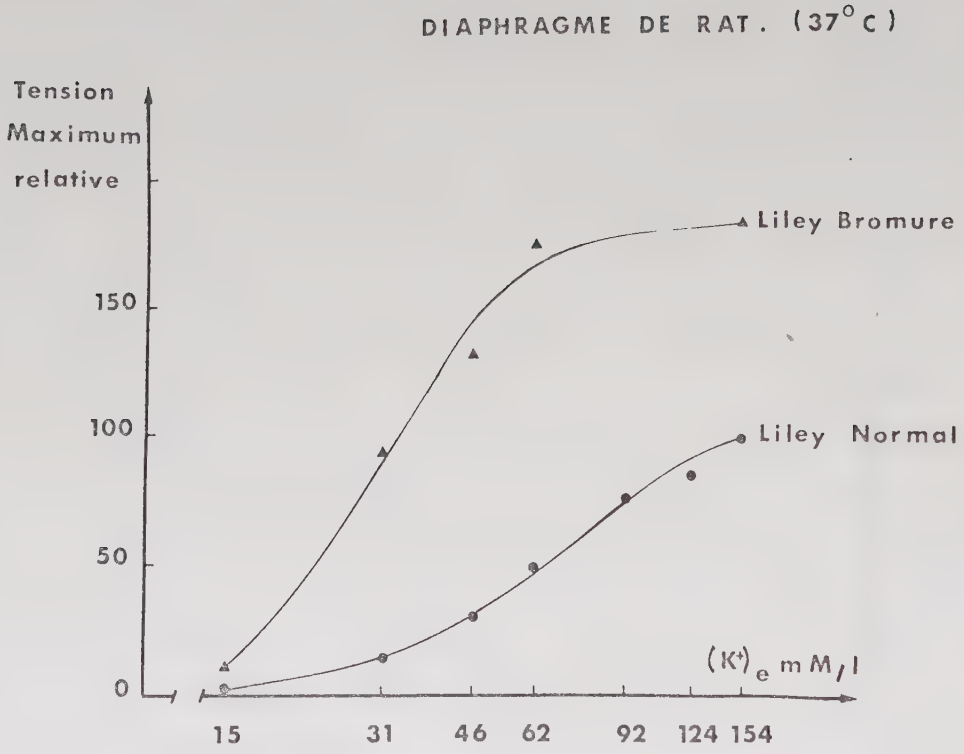


Figure 40 - Tension produite lors de contractures de dépolarisation provoquée par diverses concentrations de chlorure de potassium, en milieu sans sodium normal et où le bromure est substitué en totalité au chlore. Coordonnées identiques à celles de la figure 39.

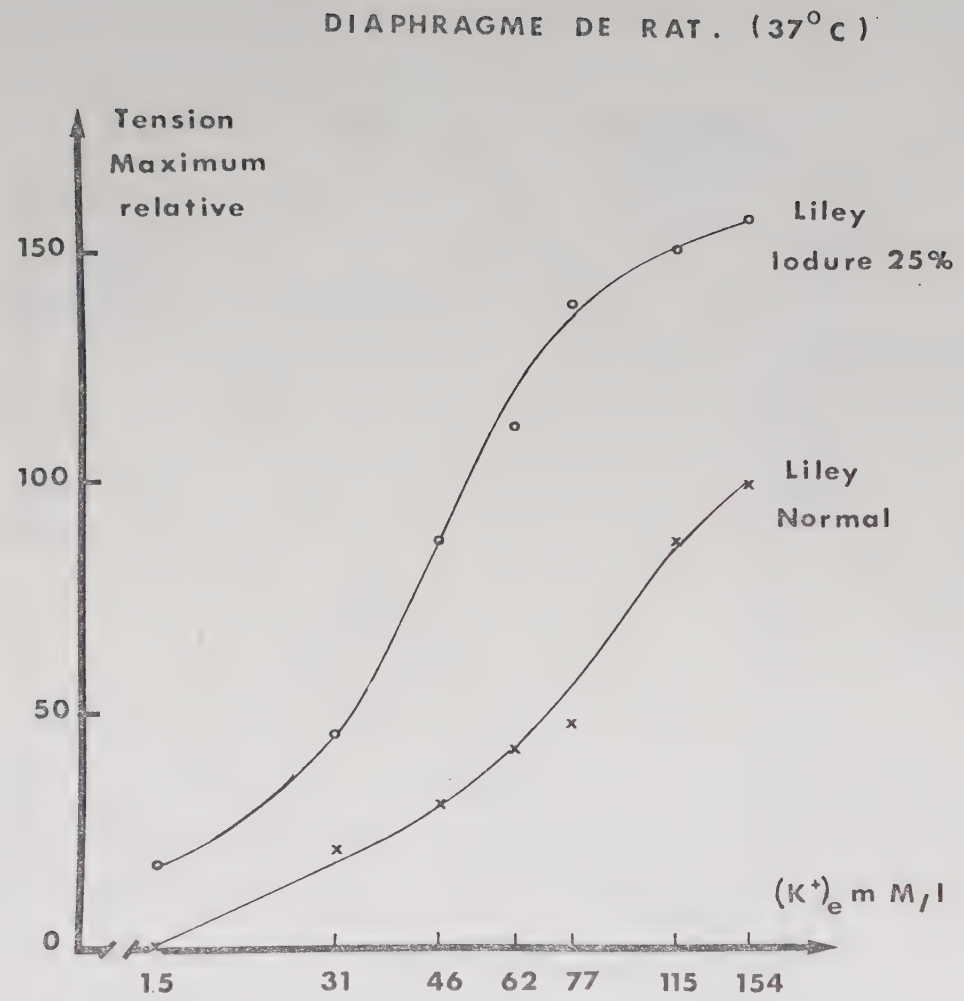


Figure 41 - Tension produite lors de contractures de dépolarisation provoquée par diverses concentrations de chlorure de potassium en milieu sans sodium normal, et en présence d'iodure substitué en partie (25%) au chlore.

Coordonnées identiques à celles de la figure 39.

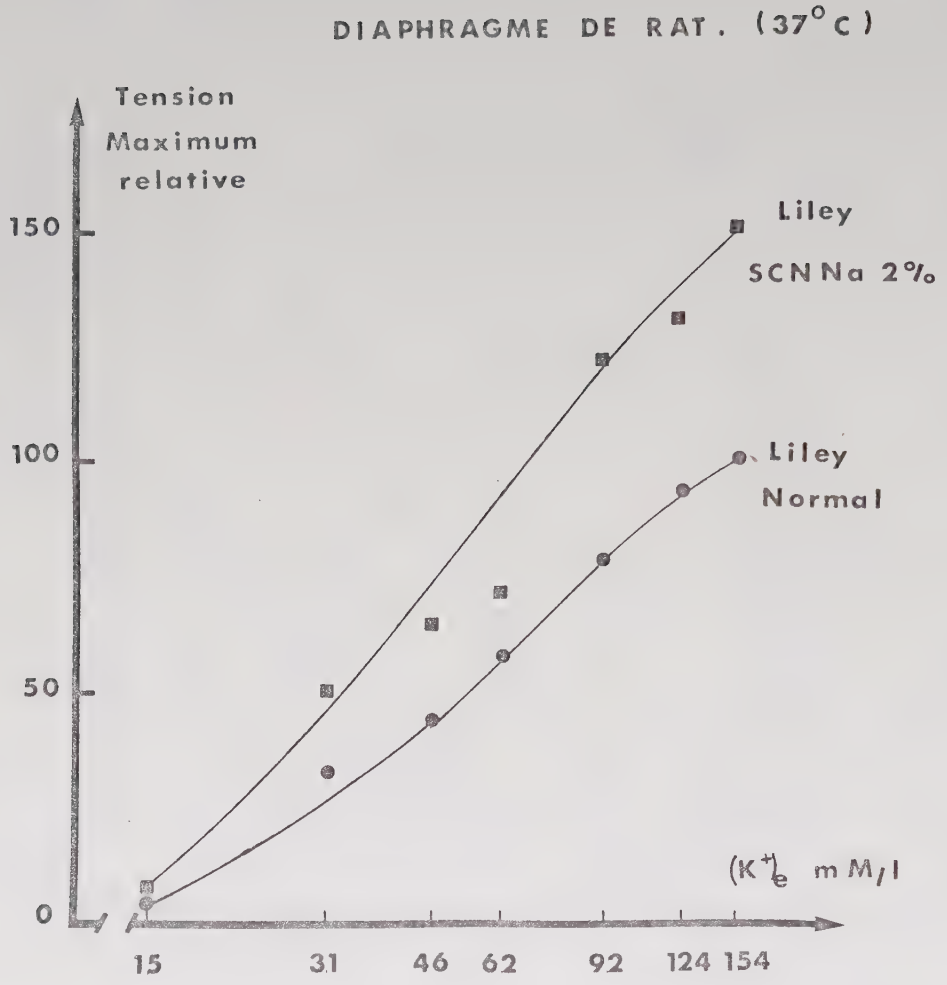


Figure 42 - Tension produite lors de contractures de dépolarisation provoquée par diverses concentrations de chlorure de potassium en milieu sans sodium normal, et en présence de thiocyanate substitué en partie (2%) au chlore.

Coordonnées identiques à celles de la figure 39.

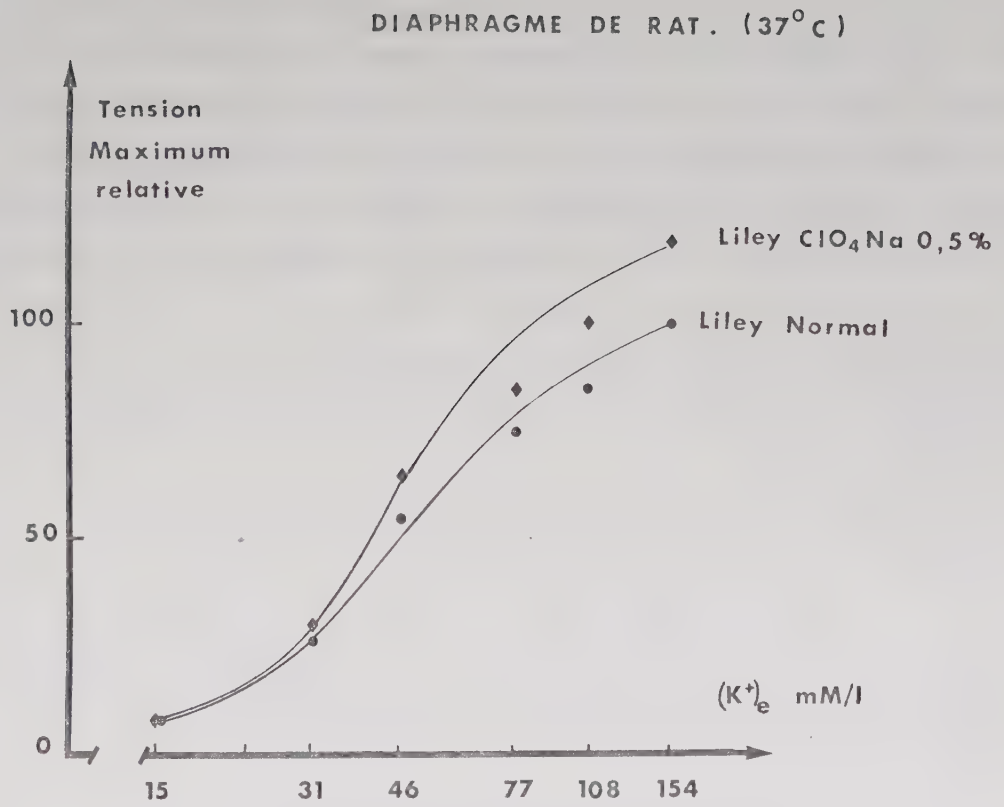


Figure 43 - Tension produite lors de contractures de dépolarisation provoquée par diverses concentrations de chlorure de potassium, en milieu sans sodium normal et en présence de perchlorate (0, 5%).
Coordonnées identiques à celles de la figure 39.

Si nous reprenons les deux schémas de SANDOW (voir introduction, figures 7 et 9), nous voyons que le potentiel d'action comme chez la Grenouille est peu modifié, le seuil mécanique de dépolarisation est abaissé et c'est ce dernier facteur qui est responsable du renforcement de la secousse - SANDOW (1965) attribué à l'abaissement du seuil mécanique de dépolarisation de l'action des agents potentiateurs de type A (anions anormaux) et explicite cet effet en considérant sur le schéma l'aire comprise entre le seuil mécanique et l'enveloppe du potentiel d'action. Cette aire est baptisée : période mécanique efficace. Tout agrandissement de l'aire et en particulier par abaissement du seuil entrainera donc une réponse allongée, particulièrement la phase de contraction du muscle pendant la secousse. D'où une libération de calcium pendant un temps plus long, prolongation de la durée de l'état actif et comme résultante , réponse mécanique accrue. Nous discuterons l'autre cas de figure où le seuil mécanique n'est pas modifié mais c'est la durée du potentiel d'action qui devient le facteur primordial du renforcement, avec l'action des cations métalliques lourds.

Si nous examinons le maximum de potentiation obtenue avec ces divers anions, nous constatons que nous sommes loin des résultats spectaculaires observés chez la grenouille .

Nous reprenons ici un tableau de SANDOW (1964) qui éclaire bien notre propos. Nous y avons ajouté des résultats concernant la grenouille de CHAPMAN et de BENOIT, ETZENSPERGER et SANTINELLI. En effet, ces auteurs ne recueillent des tensions de secousses renforcées qu'augmentées dans les mêmes proportions que nous. Nous pensons pouvoir attribuer aux conditions expérimentales cette différence. En premier le facteur temps: en effet, les enregistrements de SANDOW, en particulier sont fait longtemps après le changement de milieu (autour de 60 mn); alors que les autres auteurs, comme nous-mêmes, réalisent leurs premiers enregistrements très tôt (quelques minutes après la modification du milieu).

Agent Renforçateur	Concentration M	Renforcement %	Références
NO_3^- , Br^-	$1{,}1 \times 10^{-1}$	150 (1)	(1) Kahn Sandow
I^-	0,6 à $1{,}1 \times 10^{-1}$	200 (2), (3) 200 (1) 300 (3)	(2) Hill et Mac Pherson (3) Hodgkin et Horowicz
SCN^-	0,1 à 2×10^{-1}	200 (3)	
NO_3^-	$1{,}1 \times 10^{-1}$	20	Chapman
SCN^-	12×10^{-3}	50 à 100	Benoit, Etzensperg Santinelli

Chez le rat, N. CARPENI observe des augmentations de tension de la secousse en présence de nitrate de 40% en moyenne. Cette valeur est voisine des nôtres. Pour éliminer le facteur temps, nous avons prolongé certaines expériences et nous n'avons pas noté d'effet sur la tension elle-même. Par contre, il arrive que la phase de relaxation de la secousse continue de s'allonger avec le temps. Le deuxième facteur que nous pourrions incriminer pour expliquer cette différence dans les résultats peut être le choix du milieu physiologique de survie dit milieu normal et en particulier du système tampon utilisé. Nous reviendrons longuement sur ce point avec l'étude de l'uranyle.

II-2.6. Caractérisation de la phase de relaxation de la secousse par la détermination graphique de ses divers paramètres (figure 67 à 70).

Nous avons récemment appliqué cette méthode à une grande partie de nos résultats. Dans les tableaux I à VI, nous avons figuré les divers paramètres tirés de cette étude (description de la méthode au début du chapitre "Résultats"). A nos observations, nous avons ajouté, lorsque les auteurs ont illustré leur travail d'enregistrements expérimentaux, ceux que nous avons pu trouver dans la littérature.

Pour toutes ces expériences traitées ainsi, nous avons obtenu des droites dans l'intervalle compris entre 50% et 20% de la tension maximale de la secousse. Nous avons donc analysé la pente de cette droite. Puis nous avons caractérisé la valeur de la durée de la chute de tension à 50%. D'autre part, autour de 20%, dans certains cas, le décours temporel de la chute ultime de la tension se modifie et perd la forme exponentielle. Ce point de "décrochement" est caractérisé par le temps pour lequel il se produit : tD et la tension à laquelle la variation de pente apparaît : Pd. Si nous examinons les tableaux I à VI, le plus souvent en présence d'un anion la pente diminue. Les fortes diminutions de pente sont dans ce cas liées à une nette augmentation de tension (taux de renforcement élevé). Un bon exemple est donné par l'effet de l'iodure, aussi bien chez le diaphragme que chez le lombrical. En présence de nitrate, de bromure et de perchlorate, si la durée de la phase ascendante de la secousse est considérablement allongée, la pente m est peu diminuée. Le thiocyanate, peu efficace sur la tension, n'entraîne pas de modification notable des paramètres. Ceci illustre la bonne reproductibilité des réponses observées en milieu normal en particulier et que nous n'avons pas fait figurer pour ne pas alourdir considérablement les résultats. Par contre, nous avons reproduit des expériences qui s'é-

cartent du schéma général, et qui nous permettent de mieux comprendre l'incidence relative de la durée de la phase ascendante et de la constante de vitesse de la relaxation sur l'amplitude de la tension.

Dans le tableau VI, nous avons reporté des expériences où nous avons fait agir plusieurs ions les uns après les autres, séparés par des intervalles de séjour en milieu normal. Nous avons voulu ainsi déterminer si nous pouvions obtenir des renforcements variables selon l'ion utilisé, sur un même muscle. L'expérience du 8-3-67 où nous avons fait agir successivement du thiocyanate, du perchlorate et de nouveau du thiocyanate montre le peu de variation de la tension en présence de thiocyanate liée à une accélération de la vitesse de la relaxation et à une durée de la phase ascendante non modifiée. Par contre, le perchlorate augmente la tension, allonge la durée de la phase ascendante de la secousse mais la relaxation est accélérée, ce qui peut être attribué à un effet rémanent du thiocyanate. Ceci pourrait expliquer l'inéfficacité du thiocyanate en tant qu'agent renforçateur de la seccusse chez le Mammifère.

En résumé, en présence des ions nitrate, bromure, iodure, perchlorate, la tension de la secousse est augmentée, la durée de la phase de contraction est allongée et la phase de relaxation est ralentie. Le potentiel de pointe de la fibre musculaire n'est pas modifié sauf en présence d'iodure où il est allongé, il apparaît un potentiel consécutif négatif. En présence de concentrations croissantes en potassium, et d'un anion étudié, on note un net abaissement du seuil mécanique de dépolarisation. Nous pouvons donc conclure à un renforcement de la secousse du même type que celui observé chez la grenouille, lié à une prolongation de la durée de l'état actif.

III-Renforcement de la secousse sous l'action des cations métalliques lourds : zinc, uranyle, cadmium, nickel.

III-1. Modifications apportées au potentiel d'action (figures 44 et 45).

Les enregistrements des potentiels d'action des fibres du diaphragme de Rat ont été réalisés dans les mêmes conditions expérimentales que dans l'étude des anions. Le potentiel d'action en milieu normal *in vitro* présente pratiquement pas de potentiel consécutif négatif (phase de post-dépolarisation présenté chez le muscle de rat *in situ* (ILDEFONSE, GALAND, GARGOUIL, 1965). Les cations métalliques provoquent l'apparition d'un po-

tentiel consécutif négatif dont l'amplitude ne dépasse pas 15 millivolts avec une moyenne de 10 millivolts. Classiquement, cette post-dépolarisation lente se situe au-dessous du seuil mécanique de dépolarisation (voir figure 7, d'après SANDOW).

Non seulement la prolongation de la dépolarisation membranaire en présence des cations est marquée par l'apparition des potentiels consécutifs négatifs, mais encore par un allongement global de la durée du potentiel d'action. Les diverses valeurs de la durée et leurs modifications, mesurées comme nous l'avons décrit au début du chapitre, sont portées dans le tableau XVII.

Deux faits se dégagent de ce tableau : en premier, l'inéfficacité du nickel. Ceci sera confirmé par l'enregistrement des secousses. De même pour l'uranyle, aux concentrations inférieures à 50 micromoles/l, on n'observe aucune modification de potentiel d'action : le cadmium et l'uranyle allongent considérablement à la fois la phase ascendante de potentiel d'action et sa phase descendante, ce qui n'est pas le cas du zinc qui ne modifie pas la durée de la phase ascendante. Si nous comparons, ces résultats à ceux notés chez la Grenouille et schématisés par SANDOW (figure 10), nous constatons que ce sont les anions qui provoquent l'apparition d'un potentiel consécutif négatif individualisé, et que d'autre part, dans le cas des agents du type B (cations) la durée de la phase ascendante du potentiel d'action n'est pas modifiée. Seule la phase descendante est considérablement prolongée. Mais la dépolarisation pour laquelle on voit apparaître la contraction varie avec les paramètres de l'excitation, en particulier plus la durée du stimulus est brève, plus intense doit être la dépolarisation de la membrane pour atteindre le seuil mécanique, ADRIAN, CHANDLER et HODGKIN (1969). En présence de cations divalents, on voit apparaître , et un allongement de la durée du potentiel d'action et un potentiel consécutif négatif ample. Si l'allongement de la durée du stimulus contribue à abaisser le seuil mécanique, le potentiel consécutif négatif pourrait alors se situer à un niveau mécaniquement efficace. ETZENSPERGER (1962) avait déjà soulevé cette hypothèse et proposé un schéma où le potentiel consécutif négatif jouait un rôle dans le maintien de la contraction.

En résumé, chez le Rat, les cations divalents étudiés, Zn^{++}, Cd^{++}, UO_2^{++}, sauf le Ni^{++}, allongent la durée du potentiel d'action, provoquent l'apparition d'un potentiel consécutif négatif ample et prolongé, ce qui différencie nettement leur action de celle observée par SANDOW en particulier

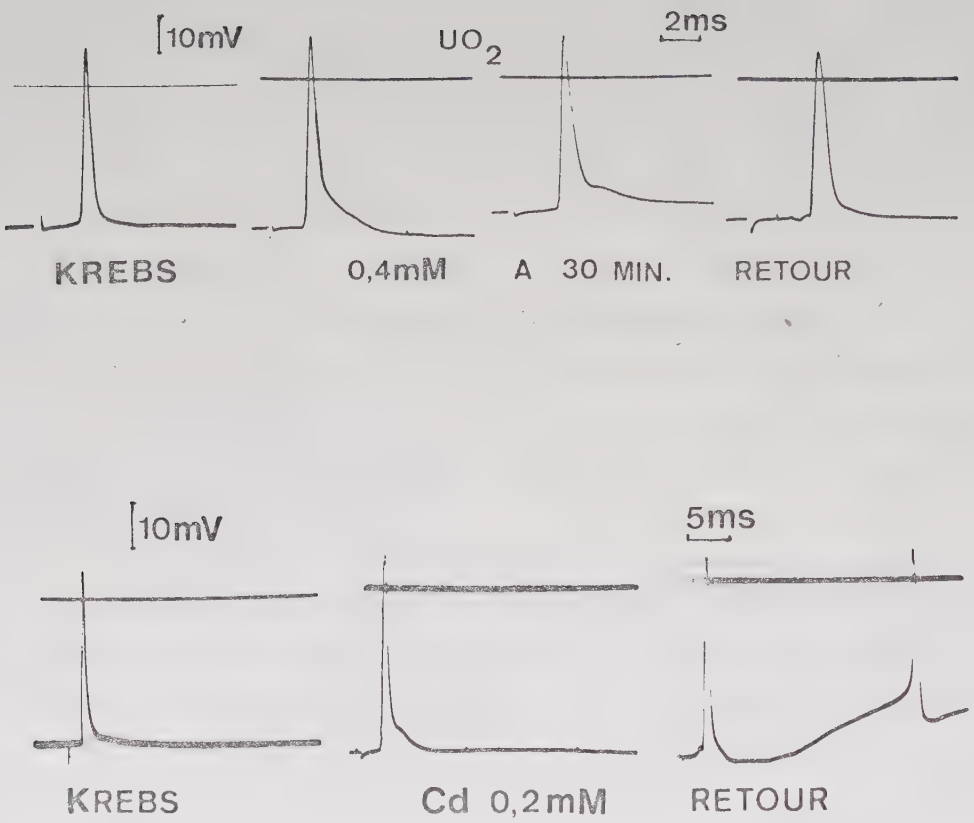


Figure 44 - Exemple de potentiels d'action de fibres de diaphragme de Rat. 37°
De gauche à droite : milieu normal, 10 mn après passage en Krebs contenant 0, 4 mM/l d'uranyle (1ère figure) et 0, 2 mM/l de cadmium (2ème figure). Le potentiel zéro est matérialisé par la seconde trace de l'oscillographe. Noter la présence d'autorythmicité au retour en milieu normal en présence de camium.

TABLEAU XVII

Ion	C	Nbre de mesures	PR mV	PA (variation en %) D	dA	D45	D40	PA mV	PCN
Zn^{++}	0,5	60	pas de variation	+60	0	+54,5	+36	pas de variation	+
	1				0	+38,5	+44		+
R.N[1]	15'	30	m=57	+87,5	-21	+38,5	+15,5	m=75	+
	30'			-10	-	+ 7,5	-		
Cd^{++}	30'	104				37	29		+
	0,2		pas de variation	58	81			pas de variation	
	60'	79	m=59			43	33	m=73	+
	1	14	"	109	6	36	13	"	+
UO_2^{++}	1	14	pas de variation m=57	+13	-8	-5,5	+5	pas de variation m=65	
	30	99		- 8	-10,5	+2	-11		
	50	17		-3,5	-2,5	+108	+25		
	400 <30'	30		+33	+97	+100	+68		+
	30'à60'	34		+70	+127	+142	+88		+
Ni^{++}	0,5	63	pas de variation m=56	+16	- 6	0	0	pas de variation m=65	
	RN[1]	65		-10	-12	-25	-8		

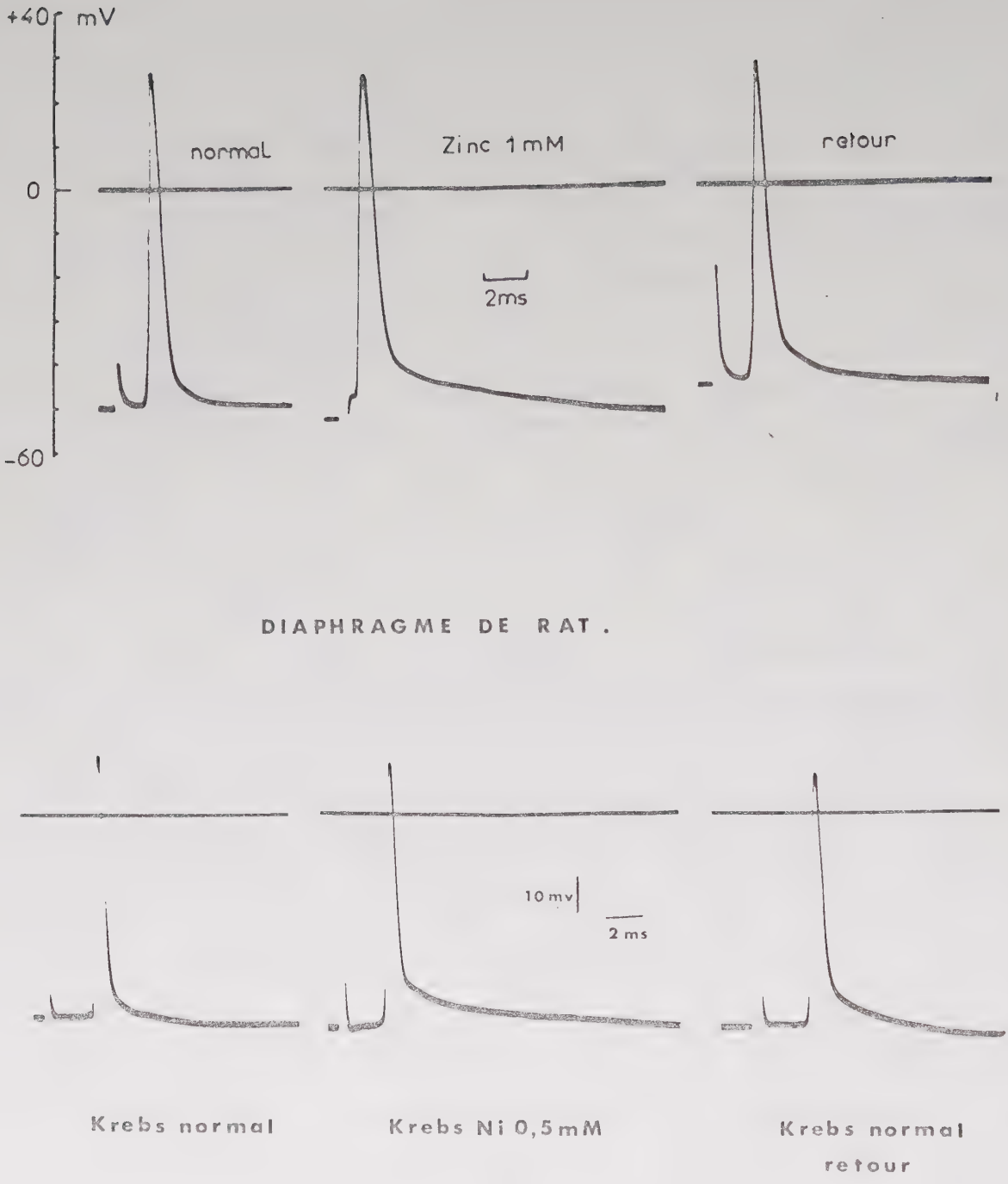


Figure 45 - Exemples de potentiels d'action unitaires de fibres de diaphragme.

chez la Grenouille où seule la durée du potentiel de pointe est allongée en présence des cations divalents.

III-2. Contractures au potassium (figures 46 à 50).

L'enregistrement des contractures a été effectué sur les deux muscles et a donné des résultats similaires. La discussion des résultats sera donc globale.

Nous avons du choisir des concentrations en cations utiles de telle sorte que n'apparaisse pas une petite tension de repos en milieu modifié. Ceci est particulièrement valable pour le zinc, où nous n'avons pas dépassé une concentration de 0,3 mM/l pour cette raison. En présence de zinc, on voit un léger décalage de la courbe vers les faibles dépolarisations, mais cette variation est minime. D'autre part, on note que pour la concentration maximum en potassium la tension chute en présence de zinc. Il semble que plus le séjour en présence de zinc est long plus la tension à tendance à être déprimée (voir figure 46). Nous considérerons donc que si il y a un léger abaissement du seuil mécanique de dépolarisation, cette variation est masquée par un effet dépressif secondaire sur la tension, que la contracture soit provoquée par le KCl (6 expériences) ou par le SO_4K_2 (6 expériences chez le diaphragme et 6 expériences avec le lombrical). Ce point, fort intéressant, sera repris, lorsque, dans la discussion, nous chercherons à localiser le niveau d'action de cet ion ; seulement membranaire ou bien pénétration dans la fibre musculaire ?

L'uranyle nous pose aussi un autre problème. A la même concentration, 0,4 mM que dans les expériences où nous avons recueilli les potentiels d'action très allongés, la courbe se déplace très nettement vers la gauche et nous permet donc de conclure à un abaissement du seuil (15 expériences pour les deux muscles). Mais il nous est arrivé d'observer pour cette concentration un phénomène analogue à celui du zinc et nous l'avons fait figurer figure 47. Enfin dans un troisième cas, nous retrouvons ici des courbes du type de celle tracées dans le cas des anions, et pour lesquelles le maximum de tension continue de croître pour 159 mM de potassium (isotonicité). Il en est de même pour le cadmium (10 expériences avec le diaphragme et 6 avec le lombrical). L'action de ce corps est très nette (planche 49). La courbe est déplacée vers la gauche et la tension recueillie en présence de Cadmium est en moyenne de 50% plus élevée qu'en mi-

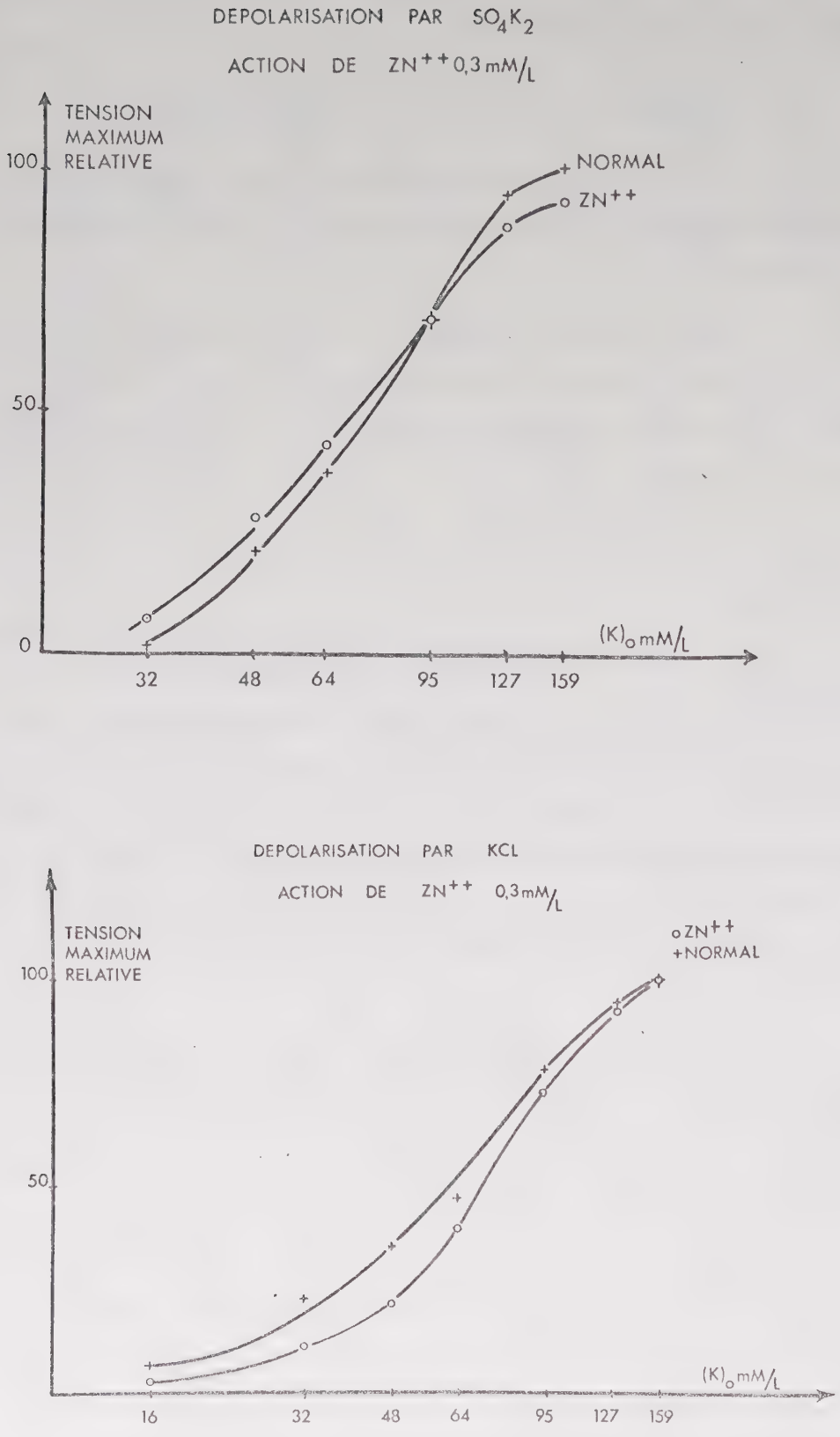


Figure 46 - Tension fournie par la contracture d'un lambeau de diaphragme lors de la dépolarisation pour diverses concentrations en K^+ (1è figure, SO_4K_2, 2è figure KCl) en milieu normal et après adjonction de 0,3mM/l de chlorure de zinc.

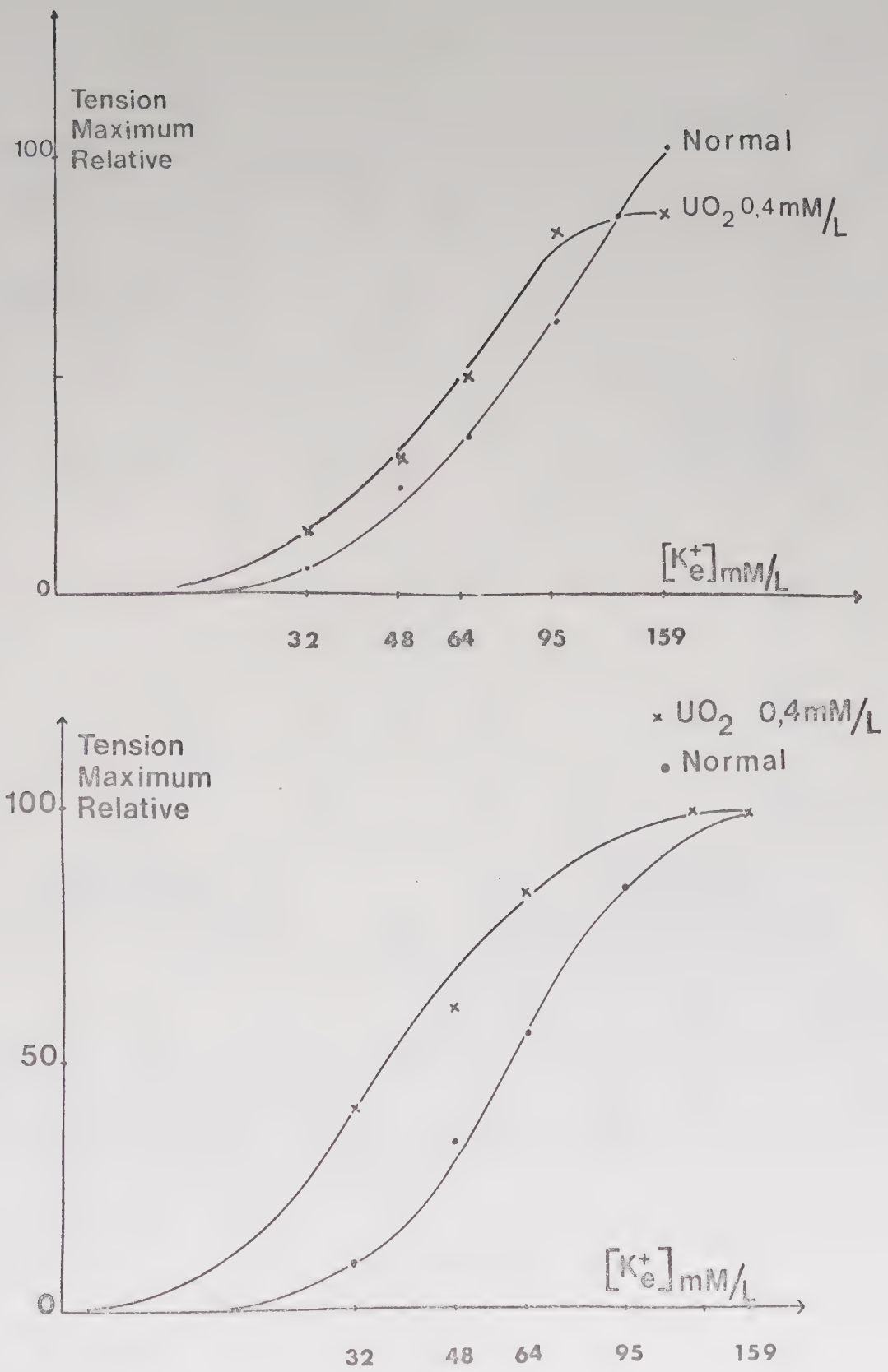


Figure 47 - Tension fournie par la contracture d'un lambeau de diaphragme lors de la dépolarisation par diverses concentrations en potassium, en milieu normal et après adjonction de 0, 4mM/l d'acétate d'uranyle.

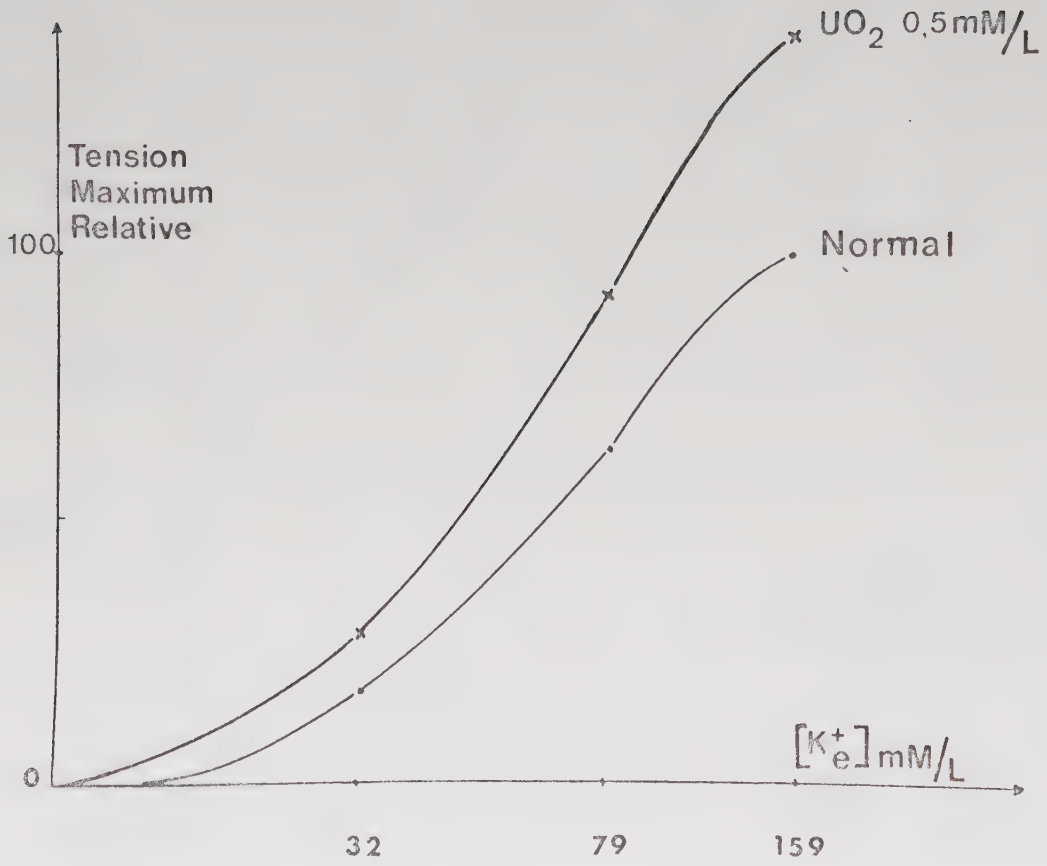


Figure 48 - Expérience analogue à celle de la figure 47.

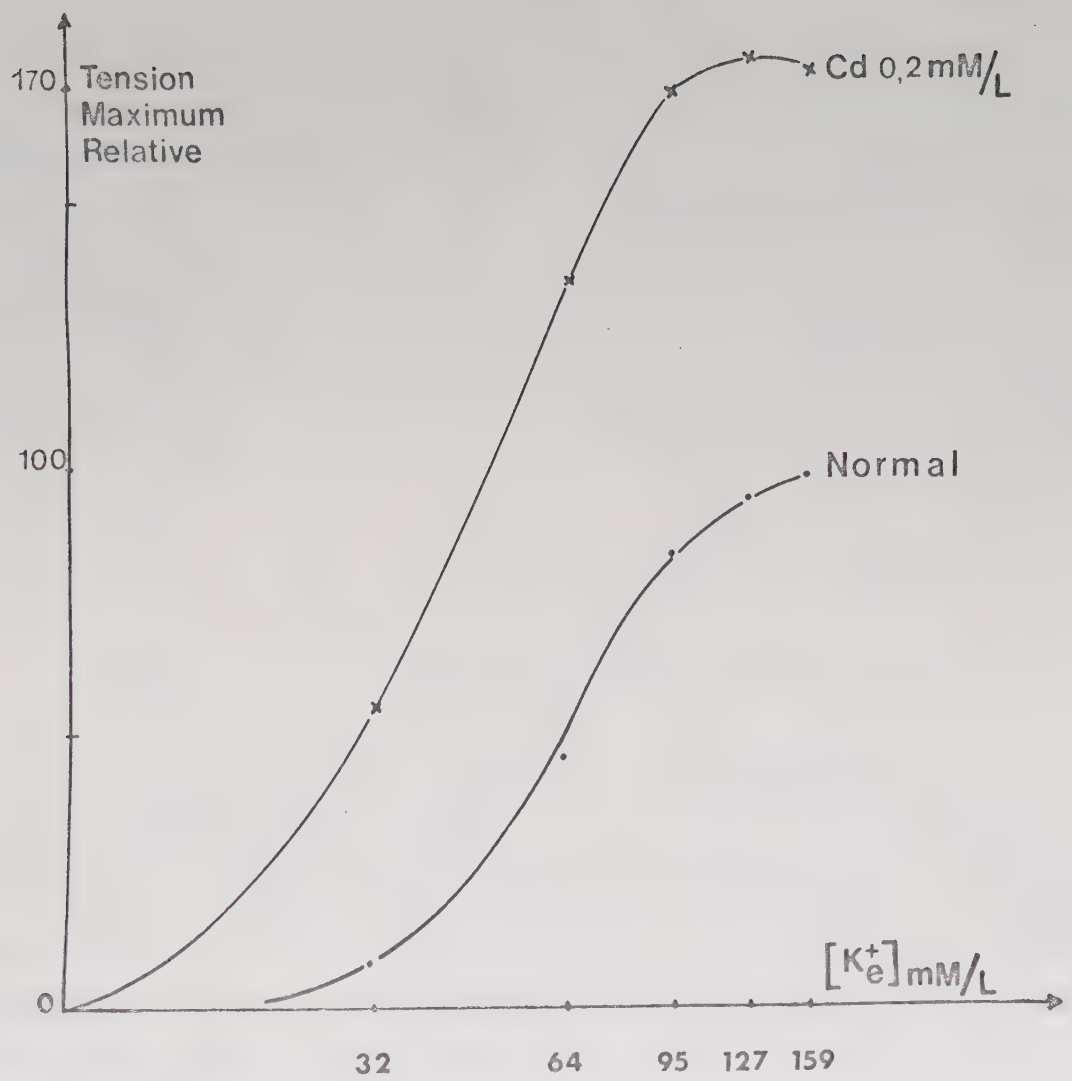


Figure 49 - Tension fournie par la contracture d'un lambeau de diaphragme lors de la dépolarisation par le KCl. Action de 0, 2 mM/l de chlorure de cadmium.

lieu normal en présence de KCl isotonique. Ici l'abaissement du seuil mécanique ne fait aucun doute.

Enfin, en présence de nickel (figure 50), (10 expériences), la courbe ressemble fort à la courbe n°3 de la figure 48 en uranyle : l'augmentation de tension de la contracture n'étant nette que pour des concentrations élevées en potassium.

En conclusion, il semble bien qu'à l'inverse de ce qui se passe chez la Grenouille, le seuil mécanique de dépolarisation soit abaissé chez le Rat en présence des cations divalents. D'autre part, pour certains d'entre eux, il apparaît un effet dépressif secondaire net en présence de zinc.

III-3. Renforcement de la secousse.

III-3.1. Action du zinc (figure 51).

Les enregistrements des secousses en milieu zinc ont toujours été réalisés dans les 15 premières minutes du séjour, l'enregistrement choisi pour la mesure étant celui effectué dix minutes après le changement de milieu. Nous avons obtenu les taux de renforcement suivants : taux moyens pour une gamme de concentrations allant de 0,02 mM à 0,5 mM/l, 8% pour 0,02 mM/l, 17% pour 0,05 mM/l, 25% pour 1 mM/l et 48% pour 0,5 mM/l. Au delà de 0,5 mM; une activité répétitive peut apparaître en réponse à une stimulation unique, ce qui provoque l'apparition d'un petit tétanos et non plus d'une secousse. La concentration efficace seuil est de 0,01 mM. Elle est plus élevée que celle nécessaire chez la Grenouille à produire le renforcement. Mais le problème des concentrations efficaces d'ions est délicat, TAYLOR, PREISER et SANDOW (1972) signalent aussi cette difficulté. Nous la retrouverons avec encore beaucoup plus d'acuité pour l'uranyle. L'allongement de la durée de la secousse est d'autant plus marqué que la concentration en zinc est plus élevée. La durée de la phase de contraction est nettement allongée. L'examen du tableau VII montre que pour les renforcements importants chez le diaphragme, la phase ascendante est allongée de 20% chez le lombrical ; cet allongement est plus marqué encore avec un maximum de 64% bien que les renforcements soient d'amplitudes voisins. Sur le tableau VII et VIII nous avons porté en comparaison de nos résultats ceux obtenus chez la grenouille par différents auteurs. Nous

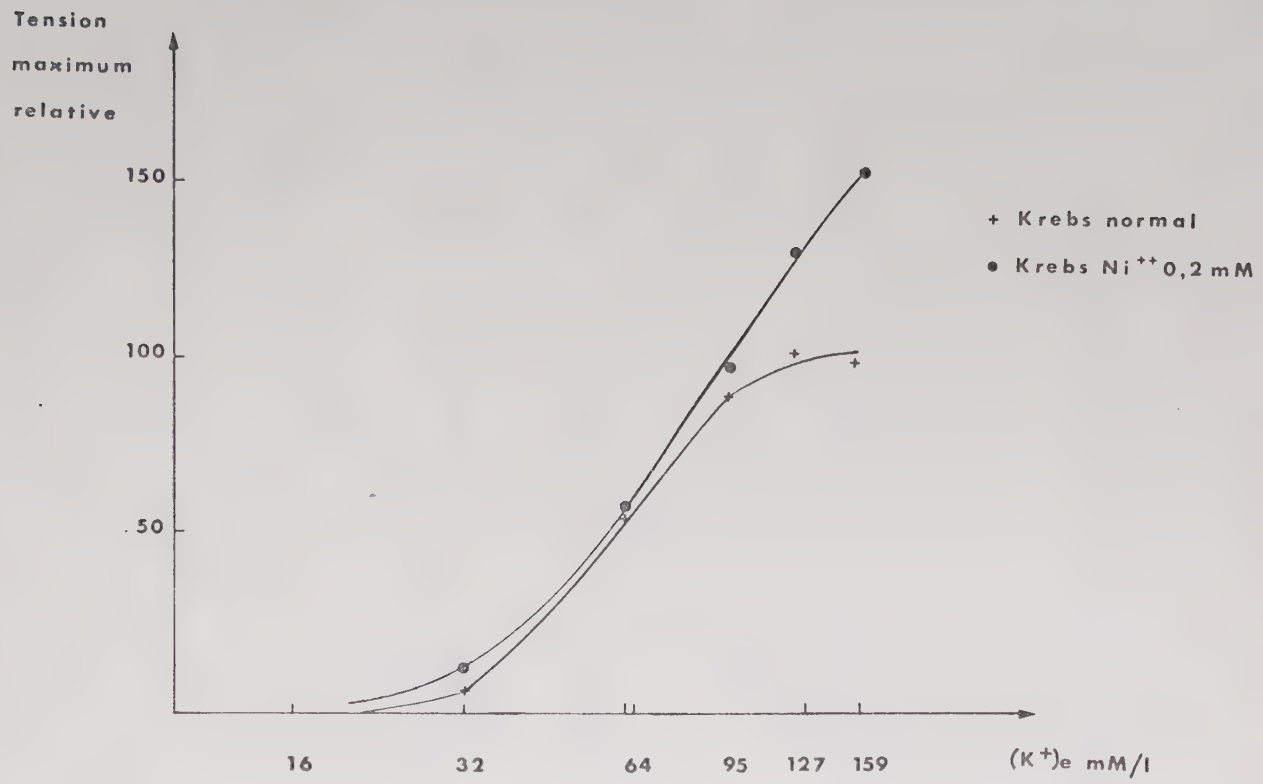


Figure 50 - Tension fournie par la contracture d'un lambeau de diaphragme lors de la dépolarisation par le KCl. Action de 0, 2 mM/l de chlorure de nickel.

constatons que les taux de renforcement sont considérablement plus élevés, allant à 300% pour des allongements de la phse de contraction de la secousse de 74% (ISAACSON et SANDOW, 1963). Pour cette dernière valeur, l'enregistrement a été effectué en présence de 0, 1 mM de zinc après 24 minutes de séjour. De même, la durée totale, quand elle a pu être mesurée, est allongée en moyenne de 20% pour les deux muscles. En particulier pour le zinc, cette mesure a souvent été impossible du fait d'un retour au repos extrêmement prolongé, faisant penser au maintien d'une légère contracture. Dans ces cas, la phase de relaxation de la secousse voyait sa forme modifiée, en particulier au niveau de la chute à 50% de la tension, qui était extrêmement ralentie, dessinant une sorte de "voûte" sur l'enregistrement. L'étude de cette phase de relaxation, entre la chute à 50% et 10% de la tension, est particulièrement intéressante dans le cas du zinc. En premier, on note un ralentissement net chez le diaphragme et chez le lombrical, et ce phénomène s'accentue considérablement au retour en milieu normal. L'augmentation de tension de la secousse se maintient alors, parfois même plus importante encore, en particulier chez le lombrical (Ex : tableau VII, exp. du 8-3-68) et la durée de la phase de contraction continue alors de s'allonger. Chez le diaphragme, on note un ralentissement plus important au retour au milieu normal qu'en milieu zinc, mais la tension a tendance à décroître au contraire.

En résumé, en présence du zinc, la tension de la secousse est augmentée, modérément comme c'est le cas en général pour le phénomène de renforcement chez le Rat, avec un allongement de la durée totale, de la durée de la phase de contraction de la secousse et un ralentissement important de la relaxation. Enfin, une tension résiduelle peut se maintenir très longtemps formant une sorte de contracture prolongée.

III-3. 2. Action du cadmium (planche 52).

Les concentrations en cadmium utilisées variaient de 0, 1mM/l à 1 mM/l, aussi bien pour le diaphragme que pour le lombrical, 0, 1 mM étant inéfficace chez le diaphragme et 0, 4 mM chez le lombrical. 14 expériences ont été effectuées avec le lombrical et 15 avec le diaphragme. Le renforcement de la secousse est en moyenne, chez le diaphragme, 28 et 29% pour 0, 2 et 0, 3 mM, 20% pour 0, 5 mM et chute pour 1 mM à 6%. La secousse chez le lombrical est particulièrement renforcée par les concentrations de 0, 5 et 1 mM. Nous avons porté sur le tableau IX une partie

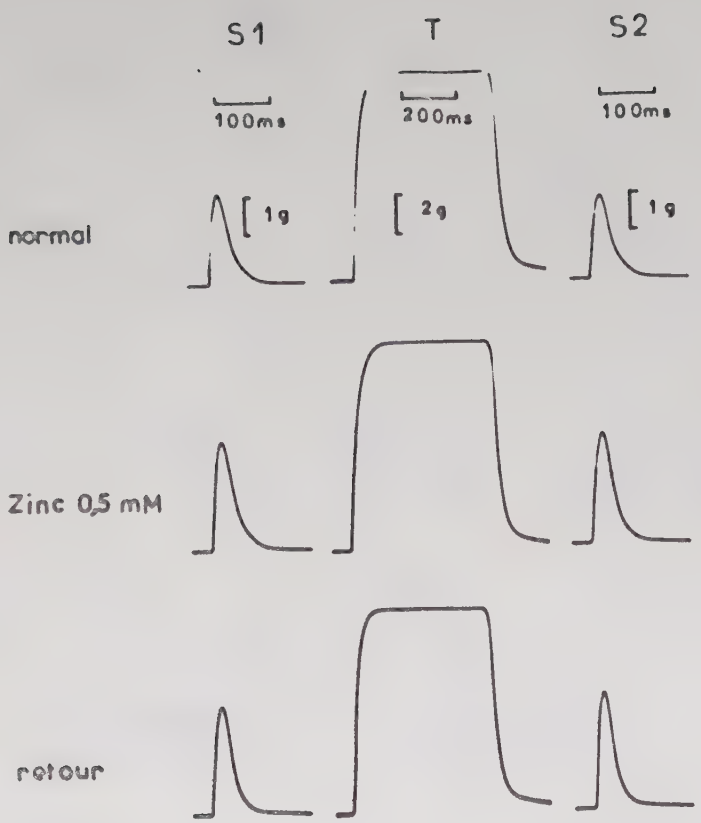


Figure 51 - Renforcement de la secousse d'un lambeau de diaphragme. Noter l'invariabilité de la tension tétanique et l'absence de reversibilité de la tension de la secousse après retour en milieu normal.

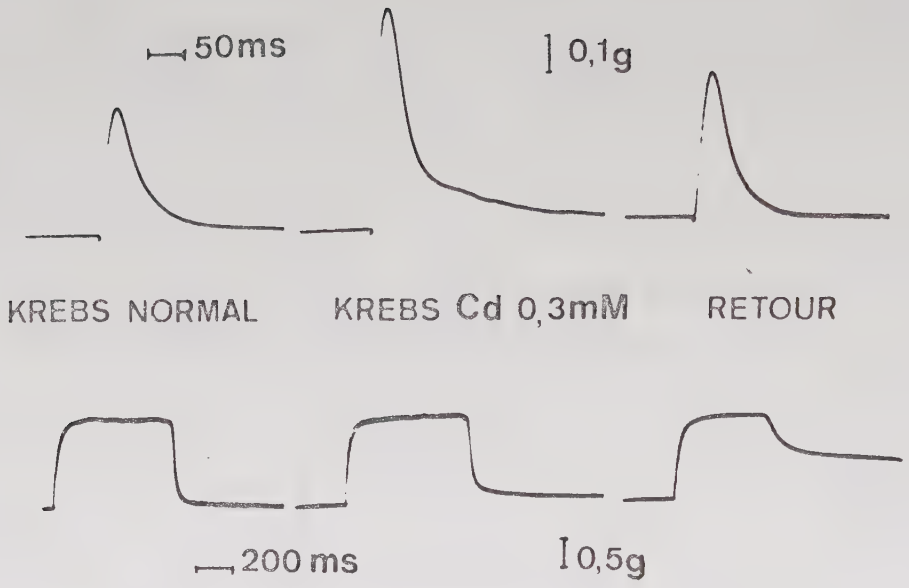
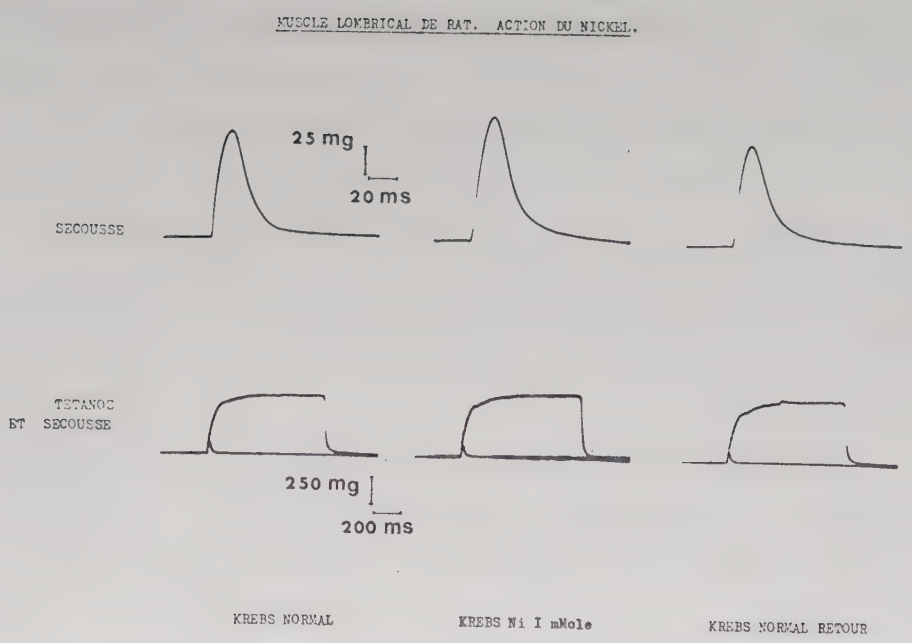


Figure 52 - Diaphragme de Rat à 37°C.
Renforcement de la secousse d'un lambeau de diaphragme.
Ligne supérieure : secousse isométrique maximale.
Ligne inférieure : tétanos isométrique. Noter l'invariabilité de la tension du tétanos et l'allongement considérable de la phase de relaxation du tétanos au retour en milieu normal.



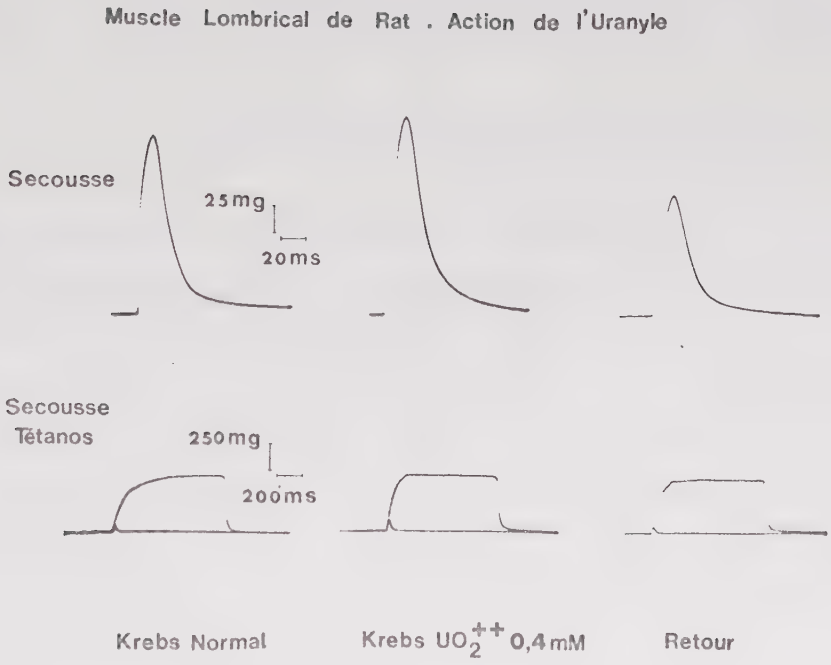


Figure 53 - Renforcement de la secousse d'un lambeau de lombrical de Rat.
1ère figure : action de 1 mM/l de chlorure de nickel.
2ème figure : action de 0, 4 mM/l d'acétate d'uranyle.

seulement de nos expériences, et nous avons ajouté un résultat de SANDOW et ISAACSON, chez la Grenouille. Nous constatons que les résultats obtenus avec le lombrical de Rat et le sartorius de Grenouille sont très voisins : renforcement de valeur voisine, et allongement considérable de la durée de la phase ascendante de la secousse. Ceci diffère totalement de ce que nous avons observé avec le diaphragme où la phase de contraction, si elle n'est pas légèrement raccourcie, n'est pas modifiée. Nous allons retrouver beaucoup plus nettement ce même effet avec l'uranyle.

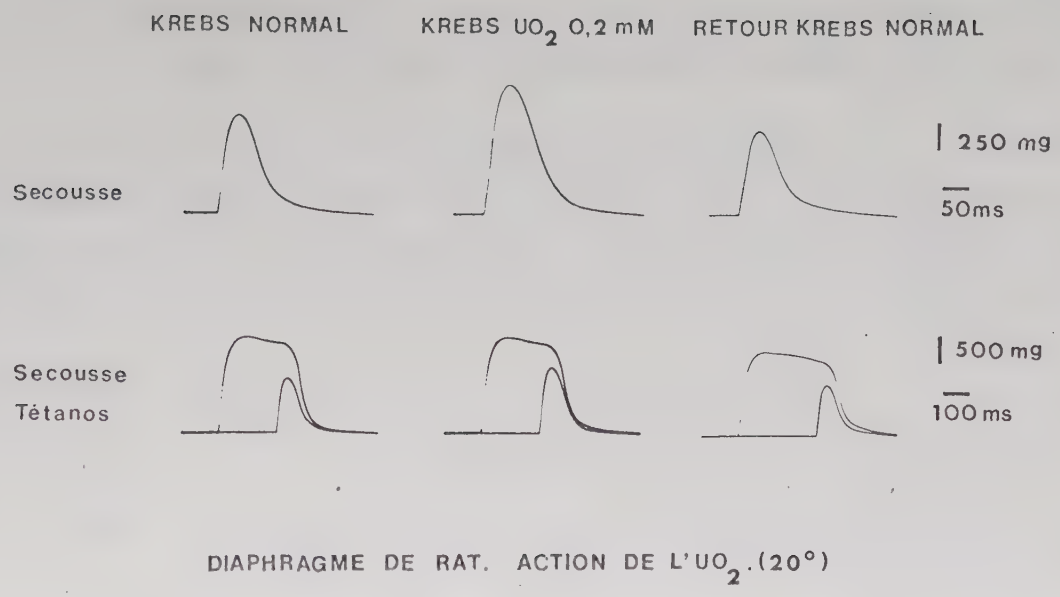
L'examen des pentes nous montre un ralentissement certain aussi bien chez le diaphragme que chez le lombrical. Parallèlement la valeur du t_{50} est augmentée, signalant un allongement de la phase de relaxation au niveau de la chute de tension à 50% pouvant même aller à la formation d'un "ventre", si la durée totale de la secousse n'est que peu allongée.

Le renforcement de la secousse en présence de cadmium se traduit chez le lombrical par une augmentation de la tension de la secousse avec un allongement du temps de contraction et un ralentissement important de la relaxation. Chez le diaphragme, l'augmentation de tension de la secousse se fait sans modification du temps de contraction.

III-3.3. Action du nickel (planche 53).

10 expériences ont été effectuées avec le lombrical et 12 avec le diaphragme. Les concentrations utilisées variaient de 0,1 mM à 4 mM. La tension de la secousse est accrue de 3% pour 0,5 mM et de 20% pour 2 mM en moyenne chez le diaphragme et de 12% pour 0,2 mM à 17% pour 3 mM pour le lombrical. En fait, chez le diaphragme, le facteur temps est important, l'augmentation de la tension a lieu pendant les premières minutes du séjour en nickel, puis s'évanouit assez rapidement. Après 15 minutes, la tension est généralement revenue à sa valeur en milieu normal. Cet effet labile est évidemment difficile à mesurer. Par contre, le lombrical a une reprise beaucoup plus stable et donc plus aisément quantifiable. L'examen du tableau X révèle les faits saillants : petite augmentation de la tension liée à un raccourcissement très net du temps de contraction. D'autre part, l'examen des pentes indique plutôt une légère accélération de la relaxation. L'étude de l'action du nickel est intéressante en comparaison avec celle de l'uranyle et nous l'aborderons dans la discussion générale qui clôt ce chapitre.

Donc, pour le nickel, pas d'effet renforçateur important, labile



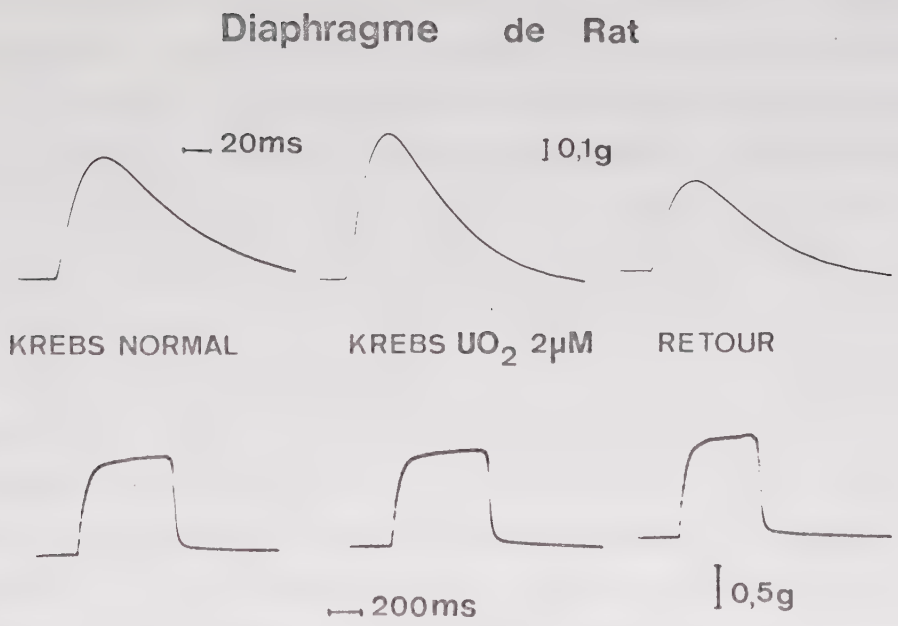


Figure 54 - Renforcement de la secousse d'un lambeau de diaphragme à 20°C et 37°C. Noter que la concentration utilisée à 20°C est 100 fois supérieure à celle qui permet d'obtenir un renforcement à 37°C.

chez le diaphragme et lié à une diminution de la durée de la phase de contraction du muscle pendant la secousse.

III-3.4. Action de l'uranyle (figure 54).

L'étude de ce cation s'est révélée particulièrement intéressante et nous y avons consacré un grand nombre d'expériences (une centaine environ). La différence de comportement entre les muscles diaphragme et lombrical en présence des cations divalents apparaît là dans toute sa netteté.

Les variations des paramètres de la secousse du diaphragme, en présence de diverses concentrations d'uranyle se résument ainsi : pour une concentration de 0,25 μM/l, la tension de la secousse est augmentée de 62% et la durée de la phase ascendante diminuée de 38%, pour 0,5 μM respectivement +45% et -7%, pour 1 μm +40% et -8%, pour 2 μM +37% et -9%, enfin pour 4 μM +8% et -6%. On constate que plus le renforcement est important et plus la durée de la phase ascendante est raccourcie. D'autre part, le renforcement est obtenu par des concentrations en uranyle analogues à celles utilisées chez la Grenouille. Mais ces concentrations sont 1 000 fois plus faibles que celles utilisées pour obtenir soit une modification du potentiel d'action, soit un déplacement du seuil mécanique. Lorsque la concentration en uranyle croit au-dessus de 10 μM, on observe alors une chute de tension de la secousse. Si nous examinons le tableau XI où nous avons transcrit pour chaque concentration en uranyle l'expérience par laquelle nous avons obtenu le renforcement maximum, nous constatons que la plus forte valeur (+161%) a été obtenue par une concentration de 1 μM/l (2-4-68). Cette expérience est intéressante car ce renforcement s'accompagne d'un allongement net de la durée de la phase ascendante (+34%) au retour en milieu normal avec maintien d'un renforcement de 142%. Dans ce cas, nous constatons une accélération considérable de la relaxation (+56,5%). C'est la seule expérience utilisant un lambeau de diaphragme où nous avons noté l'allongement de la durée de la phase ascendante de la secousse. D'autre part, lorsque nous observons une diminution de la pente m, elle est nulle en présence d'uranyle et ne se manifeste nettement qu'au retour en milieu normal.

Le muscle lombrival, au contraire, présente une réponse mécanique accrue en présence d'uranyle, liée à un allongement de la phase ascendante et à un ralentissement de la vitesse de relaxation. Cette réponse

est du type classique obtenu chez la Grenouille en présence d'uranyle. D'autre part, les concentrations d'ion nécessaires pour obtenir le renforcement sont celles par lesquelles nous avons observé des modifications du potentiel d'action et du seuil mécanique de dépolarisation (tableau XII).

Le comportement du diaphragme de Rat à 37°C, s'écartant du schéma classique de HILL et de SANDOW, nous a amené à formuler une hypothèse de fonctionnement différent du muscle de Mammifère : lors d'une secousse maximale, l'activation n'atteindrait pas son maximum, et elle pourrait être modulée par divers facteurs. Dans ce cas, le renforcement de la secousse ne peut plus être attribué seulement à une prolongation de durée de l'état actif mais aussi à une augmentation de son intensité.

III-3.5. Choix de concentrations efficaces (tableaux XVIII et XIX).

Le problème s'est posé en particulier pour l'uranyle. En effet, nous avons vu que le renforcement de la secousse chez le diaphragme se manifeste à des concentrations semblables à celles utilisées chez la Grenouille (1 μM/l). Le renforcement chez le lombrical nécessite des concentrations 1000 fois supérieures pour apparaître. De même, les variations du seuil mécanique de dépolarisation et les modifications du potentiel d'action chez le diaphragme ne sont visibles que pour de telles concentrations (0,4 mM). Nous avons cherché à voir si l'abaissement de la température du milieu de survie du diaphragme amenait une variation de la concentration efficace en uranyle. A 20°C, il est nécessaire d'utiliser alors des concentrations d'uranyle de 0,4 - 0,5 mM pour observer un renforcement de la secousse, dans ce cas de type classique avec allongement de la durée de la phase ascendante (figure 54a) ; concentrations identiques à celles nécessaires chez le lombrical. Dans le cas des expériences de "quick-stretch" dont nous exposerons les résultats plus loin, une concentration de 50 μM/l a été nécessaire, à 37°C, pour obtenir un renforcement net.

Plusieurs facteurs peuvent, à notre avis, jouer un rôle :

-les conditions expérimentales proprement dites : tout d'abord, influence de la température, en second l'état de la préparation lié à la technique de survie : renouvellement constant de la solution ou maintien dans le même bain. Dans ce deuxième cas, l'importance du volume du bain joue certainement un grand rôle.

-la préparation elle même. Dans le cas du muscle de Mammifère, SRETER et WOO signalent de grandes variations saisonnières dans le contenu ionique des muscles et en particulier de l'activité ATPasique et de la quantité de calcium fixé par le réticulum sarcoplasmique, variations venant s'ajouter aux différences observées entre les divers types de fibres.

TAYLOR, PREISER et SANDOW (1972) signalent avoir rencontré les mêmes difficultés d'utilisation du zinc chez la grenouille. Ils ont observé des variations importantes de la concentration de zinc avec la saison où l'expérience était réalisée. Ils indiquent que les muscles étaient beaucoup plus sensibles aux effets du zinc en hiver. Mais Grenouille d'été et Grenouille d'hiver sont des animaux très différents. Chez les homéothermes on aurait pu s'attendre à une grande stabilité en particulier chez les animaux de laboratoire élevés dans des conditions standard et de souche pure.

IV-Interprétation des résultats en fonction de la classification des agents renforçateurs de SANDOW.

Nous avons résumé dans les tableaux XV et XVI les modifications apportées aux divers paramètres du potentiel de membrane et de la réponse mécanique, par les agents renforçateurs que nous venons d'étudier.

Nous avons exposé dans l'introduction comment SANDOW a classé les différents agents potentiateurs en fonction des changements apportés aux relations électromécaniques par les divers agents renforçateurs (figure 10). L'examen des résultats, figuré dans le tableau ci-contre, nous permet de grouper dans le type A les anions étudiés ; en effet, leur effet principal est d'abaisser le seuil mécanique de dépolarisation. Nous devons faire une place un peu à part à l'iodure qui, seul d'entre les anions étudiés, allonge la durée du potentiel de pointe. Il se rapprocherait plutôt du type C, représentatif des drogues telles que la caféine, où on observe à la fois un abaissement du seuil mécanique et une augmentation de la durée du potentiel d'action.

Dans le cas des cations divalents, en éliminant la réponse du diaphragme en présence d'uranyle, nous pouvons conclure à une action de type B avec la différence suivante : chez la Grenouille le seuil mécanique n'est pas modifié alors qu'il est abaissé dans le cas du muscle de Mammifère, en particulier en présence des anions divalents; de plus apparaît un

potentiel consécutif négatif ample. Il serait nécessaire de prévoir un type B' correspondant à cette action. Cette classification étant basée sur le principe d'un état actif dont le seul paramètre variable est la durée, nous ne pouvons y rattacher l'uranyle qui pourtant semble correspondre parfaitement au type B. Enfin cette classification est incomplète, un type C' ayant été décrit, où à un allongement du potentiel d'action est joint une élévation du seuil mécanique : c'est le cas du Zn^{++} chez la Grenouille pour des concentrations supérieures à 50$_{\mu}$M/l (TAYLOR, PREISER et SANDOW, 1972) et des milieux de survie à pH acide (PRZYBYSLAWSKI, LAXENAIRE et POULAILLER, 1967).

Chez le Mammifère, le renforcement de la secousse n'est pas le fait de la variation d'un seul paramètre mais est la résultante des modifications apportées à chacun d'entre eux. Nous devrions donc nous attendre à un renforcement beaucoup plus important que chez le muscle de Grenouille. Comme nous l'avons vu, il n'en est rien. Pour cela, nous allons tenter de nous représenter les mouvements de calcium que recouvrent les divers paramètres étudiés. A la notion d'état actif (HILL), difficile à cerner, nous utiliserons le terme d'activation : l'activation représente la quantité de calcium libéré à la suite de l'excitation et apte, à chaque instant, à se lier aux protéines contractiles, induisant le cycle capture-rupture des ponts générateurs de la force. En introduction, nous avons exposé en particulier le modèle de comportement du muscle de JULIAN. Lors de l'excitation, la dépolarisation de la membrane entraîne la libération du calcium stocké dans le réticulum. La présence du calcium ionisé libre va avoir deux conséquences :

- la première, sa fixation sur l'actine et la production de la tension,
- la deuxième, le déclenchement de l'activité ATPasique de la myosine fournissant ainsi de l'énergie au moteur d'une part et, d'autre part, à la pompe réticulaire entrainant la fixation du Ca^{++} ionisé libre. L'activité de la pompe réticulaire est d'autant plus grande que la concentration en ions Ca^{++} dans le sarcoplasme est plus élevée. Les constantes de vitesse de ces trois phénomènes sont évidemment différentes. La durée de la phase ascendante de la secousse, donc la vitesse d'établissement de la contraction est étroitement liée à l'activité ATPasique de la myosine (BARANY, 1967). Plus le muscle est rapide, plus l'activité ATPasique est grande. D'autre part, plus la quantité de calcium ionisée, libre, sera grande, plus la contraction sera intense. La pompe réticulaire à une constante de vitesse plus lente, et la forme du myogramme est gouvernée par ces divers facteurs.

TABLEAU XV

Ion	Type de muscle	Secousse P 1	Dt 2	dφC 3	m 4	Po 5	dA 6	P.A. D45 D40 7	P.C.N. 8	A 9	PR 10	SMD 11
NO_3^-	Δ	++	++	+++	--	0	0	0	0	0	0	---
	L	++	++	+++	-	0						
Br^-	Δ	+++	++	+++	--	0	0	0	0	0	0	---
	L	+++	++	+++	-	0						
I^-	Δ	++	0	+	-	0	0	++	0	0	0	---
	L	+++	0	+++	--	0						
ClO_4^-	Δ	+++	+	+++	0	0	0	0	0	0	0	--
	L	+++	+	+++	0	0						
SCN^-	Δ	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
	L	+	0	0	0	0						

- P tension de la secousse
- Dt durée totale de la secousse
- Durée de la phase ascendante de la secousse
- Constante de vitesse de la phase de relaxation
- Po tension tétanique maximum

TABLEAU XVI

Ion	Type de muscle	Secousse P 1	Dt 2	dφC 3	m 4	Po 5	dA 6	P.A. D45 D40 7	P.C.N. 8	A 9	PR 10	SMD 11
Zn^{++}	Δ	++	+++	+++	--	0	0	+++	+	0	0	-
	L	+++	++	+++	---	0						
Ni^{++}	Δ	0	0	0	0	0	-	0	+	0	0	-
	L	+	0	-	+	0						
Cd^{++}	Δ	+++	0	0	-	0	+++	++	+	0	0	---
	L	+++	+	++	-	0						
UO_2^{++}	Δ	+++	0	---	+	0	+++	+++	+	0	0	-
	L	++	0	++	-	0						

6 - Durée de la phase ascendante du potentiel d'action

7 - Durée mesurée à -45 mV et 40 mV sous la pointe (technique, chap. III, fig. 33).

8 - Potentiel consécutif négatif

9 - Variation d'amplitude du potentiel d'action.

10 - Potentiel de Repos

11 - Seuil mécanique de dépolarisation

$\underline{+} < 20\%$ $\quad 20 < \underline{++} < 35\%$ $\quad \underline{+++} > 35\%$ $\quad 0 < 10\%$

Dans le cas des agents potentiateurs de type B, le zinc par exemple, la durée du potentiel d'action étant très allongée, un taux élevé de libération du calcium est maintenu pendant un temps plus long. Aussi, observons nous un allongement de la durée de la phase ascendante de la secousse, et une considérable augmentation de tension. On peut supposer que le calcium repris par le réticulum est de nouveau libéré tant que se maintient une dépolarisation membranaire suffisante. La courbe établie par HODGKIN et HOROWICZ, matérialisant le rapport existant entre l'activation mécanique et le niveau de dépolarisation, indique que plus une dépolarisation élevée sera prolongée, plus l'activation mécanique maxima sera maintenue. Par l'abaissement du seuil mécanique de dépolarisation, l'allongement de l'activation porte sur des niveaux de dépolarisation moins efficaces mécaniquement. Si nous restons dans le schéma classique du renforcement, ce dernier est donc du à un allongement de la durée de l'activation mécanique (état actif de HILL). Cet allongement à bien été mis en évidence par EDMAN, GRIEVE et NILSSON sur fibre unique de Grenouille en présence de zinc.

Dans le cas du muscle de Mammifère, nous pouvons invoquer cet effet pour tous les anions utilisés et le zinc. Par contre, pour le cadmium et l'uranyle, chez le diaphragme, nous devons proposer un autre schéma. Avant de passer à cette étude, il nous paraît utile de décrire le double effet de l'ion zinc sur la réponse mécanique, effet renforçateur et effet dépresseur qui se manifeste très nettement dans le cas du diaphragme de Rat.

V-Localisation de l'action des agents renforçateurs.

V-1. Effet dépresseur de l'ion Zinc.

Lors de l'étude des variations de seuil mécanique de dépolarisation chez le diaphragme, nous avions observé une diminution de la tension des contractures pour les fortes concentrations en K^+ en milieu zinc, ceci pour des concentrations en zinc inférieures à celles nécessaires pour obtenir un renforcement de la secousse. Nous avons alors expérimenté sur de fins faisceaux de diaphragme, dans le but de recueillir des résultats plus directement comparables à ceux obtenus chez la Grenouille. Ces faisceaux de quelques dizaines de fibres donnaient en présence de KCl isotonique, une tension sensiblement égale à la tension tétanique. Pour limiter le temps de séjour des fibres en présence de zinc nous avons utilisé seulement quatre concentrations de KCl. Nous avons obtenu les résultats suivants :(Fig. 55).

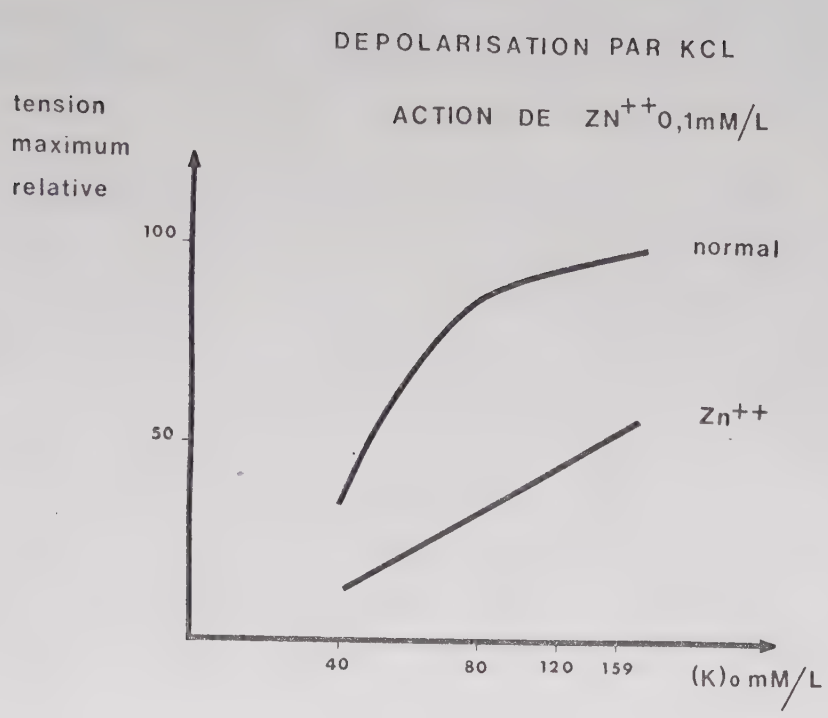


Figure 55 - Tension fournie par la contracture d'un fin faisceau de fibres de diaphragme lors de la dépolarisation par le KCl, en présence de 0, 1 mM/l de chlorure de zinc.

- tout d'abord l'action contracturante propre du zinc s'est manifestée dès que la concentration était égale à 0, 2 mM, la tension de cette contracture permanente pouvant atteindre 10% de la tension tétanique.

-ensuite, malgré l'utilisation de concentrations faibles, l'effet dépressif se manifeste dès la première application de K^+. Ce comportement est propré au diaphgrame; en effet, nous avons pu montrer par ailleurs un abaissement du seuil mécanique en présence de zinc sur de fins faisceaux de lombrical.

TAYLOR, PREISER et SANDOW (1972) indiquent avoir observé chez la Grenouille des variations du seuil mécanique de dépolarisation en fonction de la concentration en zinc du milieu. En particulier, au delà de 0, 1 mM de zinc, bien que l'allongement du potentiel d'action croisse avec l'augmentation de concentration en ion zinc, la tension de la secousse baisse. Cette chute de tension est attribuée à une élévation du seuil mécanique d'une part, et d'autre part, à un effet dépressif de la capacité contractile maximale, tel que l'on pourrait s'attendre à l'observer si le zinc pénètre dans la fibre musculaire et y détériore les myofibrilles. Une pénétration possible de l'ion zinc a aussi été invoquée par MASHIMA et WASHIO(1964) chez la Grenouille.

Nos expériences sur le diaphragme de Rat montrent que le facteur temps favorise l'effet dépresseur du zinc. De même dans le travail de TAYLOR, PREISER et SANDOW (1972, figure 3, page 426), après 10 mn en présence de 0, 05 mM de zinc, la tension de la secousse renforcée commence à décropitre. De plus la contraction permanente observée sur le diaphragme, en particulier dans le cas des fins faisceaux, est difficilement attribuable à une dépolarisation membranaire. L'importance de cet effet produit sur les petits faisceaux nous paraît attribuable à une pénétration d'autant plus marquée que les fibres ont subi plus de manipulation. Pour toutes ces raisons nous estimons que la pénétration du zinc dans les fibres musculaires est vraisemblablement la cause de l'effet dépresseur observé.

V-2. Modification de la concentration en Ca^{++} du milieu. Action de l'uranyle en milieu hypocalcique.

FRANK (1962) a pu obtenir la restauration d'une contracture au potassium chez la Grenouille en substituant au Ca^{++} du milieu un certain nombre de cations divalents, parmi lesquels le cadmium, le nickel et le

zinc. Nous avons donc cherché à voir comment l'abaissement de la concentration en Ca^{++} du milieu serait compensée en particulier dans le cas de l'UO_2^{++}. Cet ion ne figure d'ailleurs pas parmi ceux utilisés par FRANK.

Les résultats sont portés dans les tableaux XI et XIII. Nous avons comparé, en premier lieu, les modifications entraînées par une variation de concentration en Ca^{++} seule sur la secousse avec les résultats de TAYLOR, PREISER et SANDOW (1969), de CAPUTO et GIMENEZ (1967) et d'ETZENSPERGER (1970). Les divers paramètres de la secousse sont modifiés de façon analogue chez le Mammifère et chez la Grenouille, aussi bien en présence de concentration élevée en Ca^{++} (5 mM/l) qu'abaissée (jusqu'à 0,1 mM). En milieu hypocalcique, après une très légère augmentation, la tension de la secousse chute régulièrement avec le temps de séjour, d'autant plus que la concentration en Ca^{++} est plus faible, pouvant aller jusqu'à l'abolition totale de la réponse. Dans ces milieux pauvres en Ca^{++}, nous avons cherché à voir si, en ajoutant de l'uranyle, nous obtenions une restauration de la réponse mécanique. Nous avons utilisé de fins lambeaux de lombrical de manière à limiter au maximum les phénomènes de diffusion. L'examen du tableau XII révèle qu'en présence d'uranyle (0,1mM), la tension de la secousse est augmentée par rapport à celle obtenue au préalable en milieu appauvri en Ca^{++}, sauf dans le cas de l'expérience du 2-6-69, ou en présence de 0,1 mM de Ca^{++}, la tension continue de chuter. D'autre part, nous obtenons même un renforcement de la secousse par rapport au milieu normal de départ : expériences du 9-5-69, +29,5%, 12-5-69, +23,2%, du 13-5-69, +36% pour des concentrations en calcium de 0,5 mM, 0,25 mM pour les deux dernières expériences.

En présence d'une élévation du taux de calcium du milieu normal, la tension de la secousse diminue. L'adjonction d'uranyle relève aussi le niveau de tension obtenu, et dépasse même la tension de la secousse en milieu normal de 15% (expérience du 5-5-69). Les autres paramètres de la secousse sont modifiés de la même façon en milieu hypocalcique et en milieu normocalcique (1 mM), chez le lombrical sauf dans le cas de l'expérience du 2-5-69. En effet, pour cette expérience, nous avons relevé une diminution de la durée de la phase ascendante de la secousse comme dans le cas du diaphragme.

De cette expérimentation, nous pouvons donc conclure qu'en présence d'uranyle, on observe un maintien de la réponse mécanique du mus-

cle lombrical, dans les milieux pauvres en calcium. Ceci confirme l'hypothèse que l'uranyle agirait en permettant une mobilisation accrue de calcium stocké à l'intérieur de la fibre musculaire.

V-3. Effet propre du tampon Tris.

Les travaux de l'école de SANDOW sur l'action des cations divalents ont utilisé des milieux de survie tamponnés par le tri-hydroxyméthyl-amino-méthane (TRIS). Nous avons donc recherché si l'utilisation du TRIS n'entraînait pas d'effets propres dans ce type d'expériences.

L'examen des tableaux XII et XIV révèle des différences de réponse du lombrical selon que le milieu de base est tamponné avec du bicarbonate de sodium ou du tris-hydroxyméthyl-amino-méthane. Le pH est maintenu constant autour de 7,4 et l'oxygènation est assurée dans le cas du bicarbonate par du carbogène (93% O_2, 7% CO_2) et dans le cas du Tris par l'oxygène pur. Nous avons donc recherché une éventuelle action propre du tampon Tris, qui viendrait ainsi s'ajouter à l'action propre de l'uranyle. Nous avons donc étudié, en parallèle avec le muscle de Mammifère, l'action de l'uranyle chez l'extensor longus digiti IV de la Grenouille, en milieu normal bicarbonate (B) et Tris(T). Cette étude comparative montre une variabilité de l'effet recherché : les modifications des paramètres classiques de la secousse diffèrent selon les expériences. Seule la pente m de la phase de relaxation est constamment diminuée en présence de Tris. Cet effet vient s'ajouter à l'effet propre de diminution de la pente produit par l'UO_2^{++}. Nous avons comparé nos expériences avec celles effectuées par M. MANDRINO, et pour lesquelles elle conclut à un effet propre du Tris sur les propriétés électriques de la membrane de la fibre musculaire de Grenouille . M. MANDRINO (1969) a montré qu'en présence de Tris, la membrane se repolarise plus lentement : apparition d'un potentiel consécutif négatif d'amplitude accrue (+25% à +68%) et de durée prolongée. Ce fait révèle une diminution de la perméabilité au potassium de la membrane. En présence de cations divalents, on observe de même un retard important à la repolarisation membranaire. L'effet propre du Tris vient renforcer l'effet propre des cations divalents. Ceci explique en partie probablement les taux de renforcement très élevés de SANDOW et coll. (milieu Tris), en comparaison de ceux obtenus en milieu bicarbonate particulièrement chez le Mammifère.

V-4. Tentative de localisation de l'action des agents renforçateurs.

Les faits suivants viennent à l'appui de l'hypothèse d'une action des ions renforçateurs au niveau de sites membranaires :

-la reversibilité rapide des phénomènes de renforcement dans le cas des anions. Pour les cations divalents, chez la Grenouille, cette reversibilité est beaucoup plus rapide si on ajoute au milieu de retour normal certains agents permettant de déplacer les cations divalents tel que le Ca-EDTA, le phosphate inorganique pour le zinc, le Ca-EDTA pour le cadmium.

En revanche, l'uranyle comme le zinc est déplacé par le phosphate inorganique et non par le Ca-EDTA. D'autres agents chimiques ne sont pas susceptibles de pénétrer à l'intérieur des fibres musculaires peuvent jouer un rôle analogue (SANDOW et ISAACSON, 1968). C'est un bon argument en faveur d'une action de surface.

-la diminution de perméabilité au K^+ de la membrane a été observé par de nombreux auteurs en particulier dans le cas du zinc (MASHIMA et WASHIO, 1964 ; ISAACSON et SANDOW, 1963 ; KAO et STANFIELD, 1970), de l'uranyle (KAO et STANFIELD, 1970). A cette diminution de perméabilité de la membrane au K^+ est liée l'apparition d'un potentiel consécutif négatif ample et prolongé. Les ions K^+ s'accumuleraient dans la lumière des tubules et joueraient un rôle dans le maintien de l'activité au niveau de la jonction triadique. Ceci pourrait être le processus de l'abaissement du seuil mécanique de dépolarisation.

L'action des anions au niveau des tubules est contestée par certains auteurs, en particulier LUFF et ATWOOD (1970) qui la limitent au niveau de la membrane elle-même pour l'ion nitrate. Ce dernier modifierait la perméabilité au chlore de la membrane, d'où l'accroissement de résistance enregistré dans le cas des fibres de Grenouille détubulées par choc osmotique au glycérol.

-CARVALHO, MADEIRA et ANTUNES-MADEIRA (1971) indiquent que l'activité de l'ATPase membranaire, présente à la surface de la membrane, est affectée par la présence des agents renforçateurs. Cette étude porte sur des fragments de tube de sarcolemme isolé. Les auteurs suggèrent donc que ces ions ont un rôle à la fois sur la perméabilité passive de la membrane et sur les transports actifs dont elle est le siège.

Nous pouvons supposer, ainsi que de nombreux auteurs l'indi-

quent, que les membranes qu'elles soient plasmiques, réticulaires ou mitochondriales sont de même nature. La diminution de la capacité de fixation active des ions Ca par ces diverses membranes se produirait ainsi en présence de zinc et de cadmium. Il est nécessaire de supposer que les ions zinc pénètrent à l'intérieur du réticulum, peut-être en utilisant des communications entre la lumière des tubules et les citernes comme l'ont montré BIRKS et DAVEY (1968), FRANZINI-ARMSTRONG (1970) en particulier. Ces ions se fixant alors sur la membrane réticulaire, diminuent la possibilité de fixation par cette dernière des ions Ca^{++} libres. Un taux élevé de ces ions se maintient, qui pourrait être à l'origine de la contracture permanente que nous avons enregistrée dans le cas du diaphragme en présence de zinc. De plus, ces cations divalents étant fixés de façon moins labile que les ions Ca en particulier (ils ont une affinité plus grande pour les sites de liaison), ils rendraient la membrane réticulaire plus stable et élèveraient le seuil mécanique. Une telle explication pourrait par exemple être donnée dans le cas d'application du zinc en concentration élevée chez la Grenouille (TAYLOR, PREISER et SANDOW, 1969). Il est probable que les agents renforçateurs agissent aux deux niveaux décrits : la membrane plasmique ainsi que celle des tubules, et le réticulum sarcoplasmique, avec prédominance de l'un des deux facteurs selon leur type : anion ou cation. L'action au niveau du réticulum semblerait être plus particulièrement le fait des cations divalents. De nombreux arguments viennent renforcer cette hypothèse : ce sont de bons substituants du calcium dans le maintien de la contraction comme l'ont montré FRANK-1960), FISCHMAN et SWAN (1967) chez la Grenouille ainsi que nos propres expériences sur le Mammifère pour l'uranyle. De plus l'effet dépresseur sur la réponse mécanique du zinc, aussi bien chez le Mammifère comme comme nous l'avons montré, que chez la Grenouille (TAYLOR, PREISER et SANDOW, 1972) semble la conséquence d'une pénétration de cet ion. Enfin, l'hypothèse de GILLIS (1972) sur les mouvements de Ca dans les fibres rouges et intermédiaires de Mammifère vient à l'appui d'une action au niveau du réticulum. Dans le cas des fibres rouges et intermédiaires, le Ca pourrait être stocké à deux endroits différents :dans le réticulum et dans les mitochondries. Seul, le premier serait affecté par les cations divalents, ce qui pourrait être une explication du faible taux de renforcement observé chez le Mammifère dans le cas du diaphragme en particulier (40% de fibres du type intermédiaire).

VI-Activation mécanique modulable : étude du décours de la phase ascendante de la secousse à l'aide de la méthode des étirements rapides.

Nous avons entrepris sur les deux muscles lombrical et diaphragme de Rat une série d'expériences semblables à celles qu'A. V. HILL (1949, 1951) a effectuées sur le muscle de Batraciens et sur lesquelles il a fondé son interprétation du déficit de la tension de la secousse vis à vis de la tension tétanique. Lors d'une secousse isométrique maximale, l'état actif atteindrait sa valeur maximale mais pendant un temps trop court pour développer une tension égale à la tension tétanique. Un étirement rapide appliqué pendant le temps de la mise en tension de la secousse permettrait de vaincre l'inertie des éléments élastiques en série. La force maximum produite par l'élément contractile serait alors recueilli. C'est ce que A. V. HILL a observé chez la Grenouille.

VI-1. Diagramme tension longueur statique.

Nous avons d'abord établi la relation entre la tension de repos et la tension tétanique à des longueurs croissantes pour les deux muscles diaphragme et lombrical et ce, à 37°C et 20°C (figure 56). Ces diagrammes nous ont permis de constater la similitude de réponse (entension relative) aussi bien pour la tension de repos que la tension tétanique à une longueur donnée, ceci à 20°C et 37°C, dans le cas des deux muscles. Chaque point est la moyenne de cinq mesures. Ces graphiques nous permettent de définir la longueur l_o de référence, c'est à dire la longueur du muscle pour laquelle la tension tétanique est maximum (P_o) . C'est la longueur correspondante (l_o) que nous avons ensuite utilisé comme longueur de départ avant l'application de l'étirement.

VI-2. Etirements rapides à 20°C et 37°C du diaphragme et du lombrical de Rat.

Nous avons appliqué à ces deux muscles des étirements moyens de 15% (valeurs étudiées : 10, 15 et 20%). Le délai entre la stimulation et l'application de l'étirement était réglé dans chaque expérience de manière à obtenir la surtension maxima. La durée d'établissement de l'étirement était de 20 ms environ. La vitesse de l'étirement était voisine de 8 cm. s^{-1}. A 37°C, la tension maxima prise comme mesure était celle du court plateau de tension visible malgré les oscillations du système mécanique. A 20°C,

cette difficulté de mesure disparaissait du fait du ralentissement de la contraction. A 37°C, sur le diaphragme (27 expériences), la moyenne de la tension maximale obtenue par étirement pendant la secousse n'est égale qu'à 68% ± 4 de la tension tétanique tandis que dans le cas du lombrical (22 expériences), elle est pratiquement égale à cette dernière (95 ± 3. Notons que cette valeur légèrement inférieure au maximum est celle que JULIAN (1969), dans sa tentative de modélisation à partir de données expérimentales obtenues chez la Grenouille (20°C), retrouve comme degré d'activation maximum pour la secousse. A 20°C, la tension obtenue lors de l'étirement est égale à la tension tétanique pour les deux muscles (9 expériences), (101,3 ± 1,02).

VI-3. Action des agents renforçateurs sur la réponse mécanique sous étirement du diaphragme à 37°C.

Ces expériences ont été effectuées au laboratoire de Physiologie générale de l'Université de LOUVAIN, à l'aide de l'ergomètre mis à notre disposition par G. MARECHAL. Ce dispositif est muni d'une programmation permettant de définir exactement l'instant d'application de l'étirement par rapport à celui du stimulus. C'est un ergomètre à vitesse réglables. La température du milieu où baigne les muscles est contrôlée à 0,3°C près.

Une première série d'expériences a confirmé les résultats exposés au précédent paragraphe. A 37°C, la vitesse d'étirement était de 7,22 cm. s^{-1}, et semble tout à fait convenable; les vitesses inférieures se sont révélées inaptes à produire une tension maximale sous étirement. D'autre part les oscillations mécaniques ont pu être éliminées en partie, ce qui a facilité la lecture des enregistrements. Les résultats obtenus sont illustrés par les figures 57 à 62. L'examen de la figure 57 indique que le surcroît de tension de la secousse pendant l'étirement est d'autant plus grand que l'étirement est plus important, ici, 4,3%, 8,6%, 17%, mais que l'on n'atteint pas la tension tétanique à 37°C, alors que cette tension est atteinte à 20°C. Nous n'avons pu obtenir de bons résultats pour le lombrical à 37°C, le dispositif n'ayant pas été conçu pour d'aussi petits muscles. En revanche nous avons pu enregistrer la réponse de ce muscle à 20°C (figure 58). Ayant ainsi retrouvé cette même différence de comportement du diaphragme à 20°C et à 37°C, nous avons cherché à voir comment des agents renforçateurs tels que le nitrate, pris comme exemple de l'étude des anions anormaux et le zinc et l'uranyle, cations dont l'action sur la secousse est si différente, modifiaient la réponse mécanique sous étirement. En présence de nitrate (4

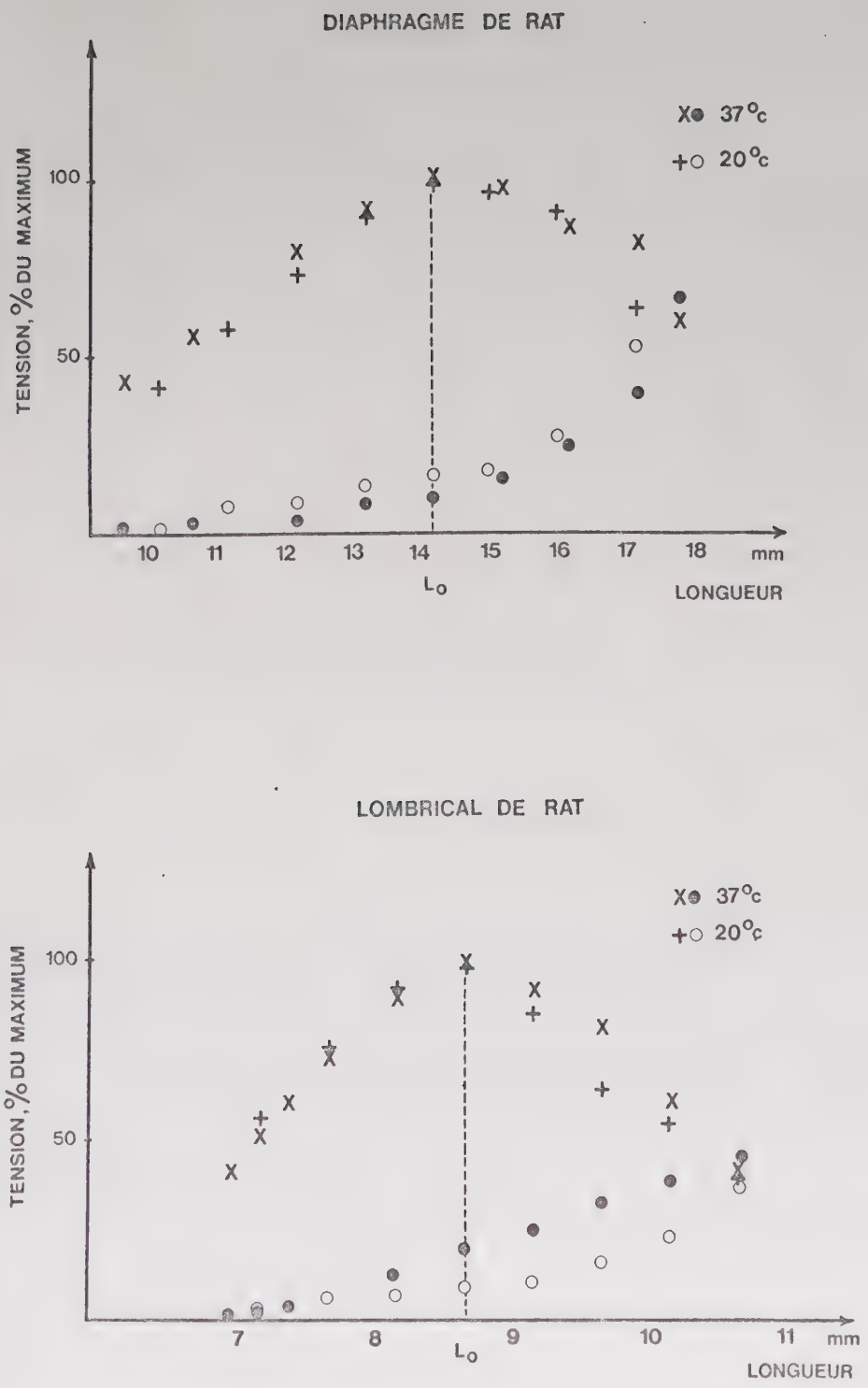


Figure 56 - Relation tension-longueur des muscles diaphragme et lombrical de Rat à 20°C et 37°C.

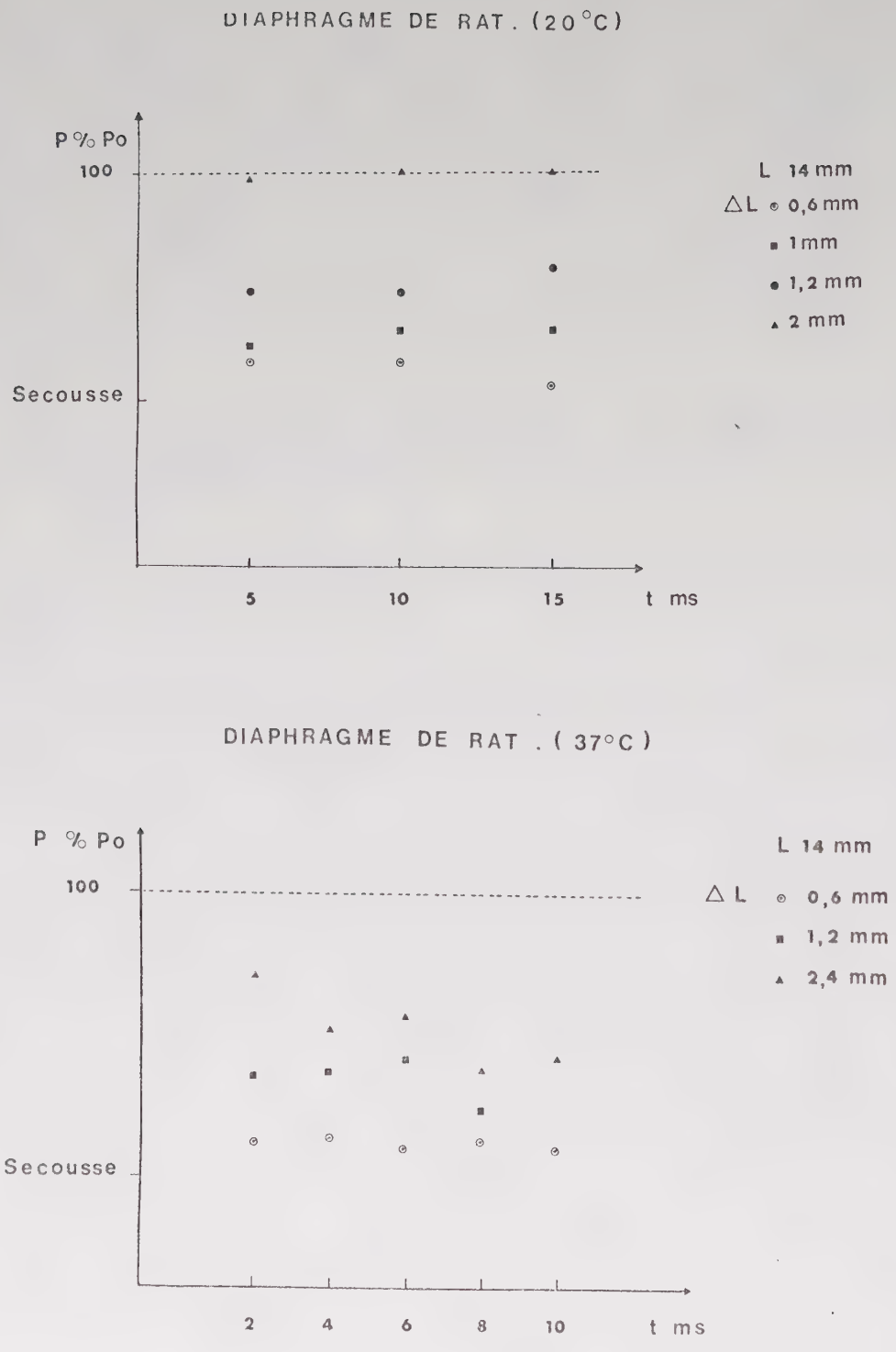


Figure 57 - Tension de la secousse sous étirement rapportée à la tension tétanique en fonction de l'amplitude de l'étirement à 20°C et 37°C.

En abscisses : délai d'application de l'étirement compté à partir de l'instant d'application du stimulus.

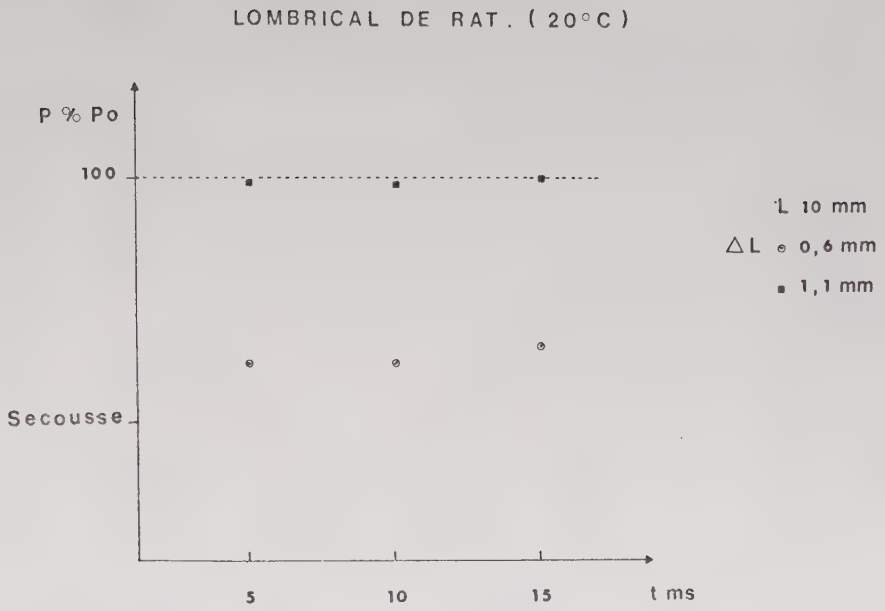


Figure 58 - Tension de la secousse sous étirement rapportée à la tension tétanique en fonction de l'amplitude de l'étirement.
En abscisse : délai d'application de l'étirement compté à partir de l'instant d'application du stimulus. Noter que la tension atteint la tension tétanique figurée par une ligne en pointillés, de même dans le cas du diaphragme à 20°C (figure 57).

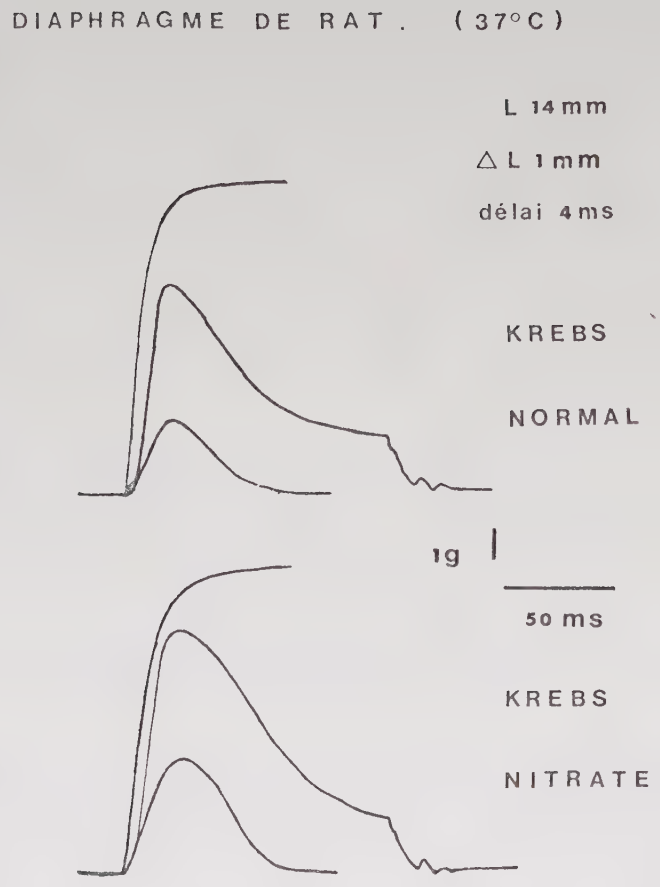


Figure 59 - Tracés superposés : secousse, secousse sous étirement, tétanos à la longueur étirée, en milieu normal et milieu nitrate.

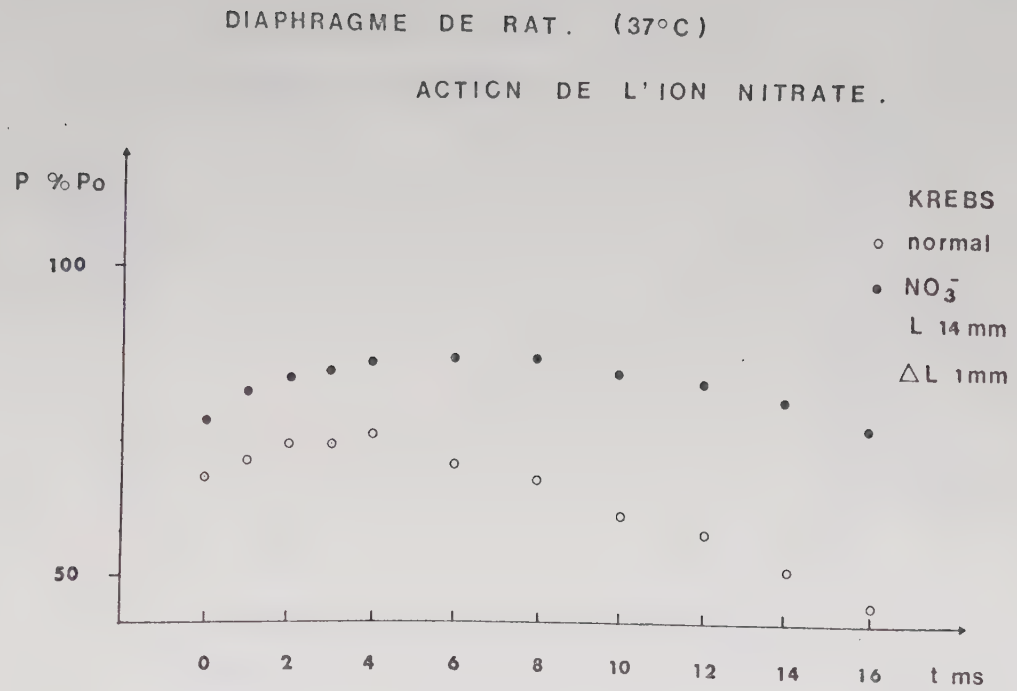


Figure 60 - En ordonnée : tension de la secousse sous étirement rapportée à la tension tétanique.

En abscisse : délai d'application de l'étirement compté à partir de l'instant d'application du stimulus.

Noter l'efficacité accrue de l'étirement en présence de nitrate ainsi que l'allongement de la durée pendant laquelle l'étirement produit une tension appréciable.

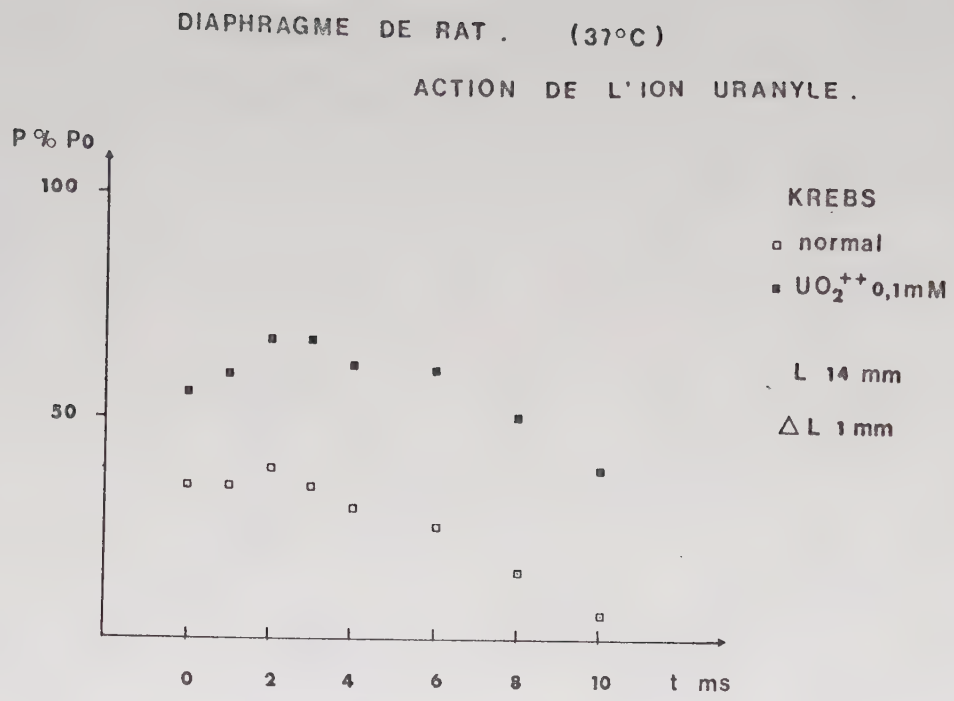


Figure 61 - Coordonnées identiques à celles de la figure 60.

Noter que la tension maximum produite par l'étirement se produit plus tardivement en présence de zinc.

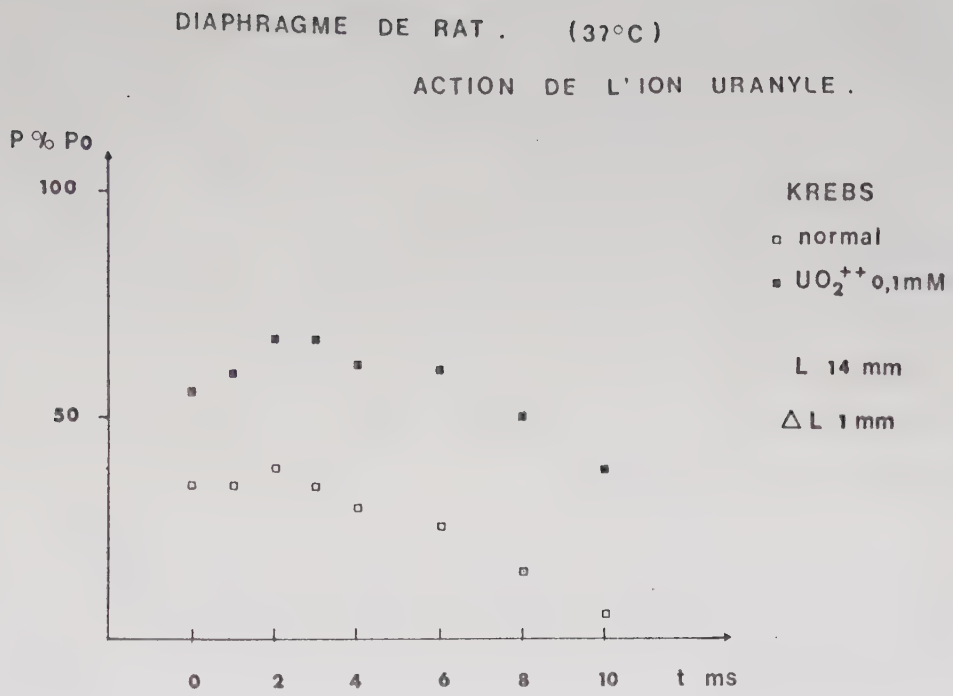


Figure 62 - Coordonnées identiques à celles de la figure 60.

Noter que le maximum de tension est obtenu pour un délai identique en milieu normal et en milieu uranyle.

mesures, fig. 59), nous avons constaté un renforcement de la secousse, et une augmentation du surcroît de tension produit par l'étirement. La réponse maximum apparaît en milieu nitrate pour un délai stimulus-étirement plus long qu'en milieu normal et l'efficacité de l'étirement se prolonge en présence de nitrate. En effet, 16 ms après le choc de stimulation, la chute de la tension de la secousse sous étirement n'est que de 26% de la chute en milieu normal (figure 60). En présence de zinc (2 mesures à 0, 1 et 4 mesures à 0, 2 mM, fig. 51), nous pouvons observer le même effet : une prolongation de la durée pendant laquelle l'étirement produit un surcroît de tension notable. En revanche, en milieu uranyle (2 exp. à 1_{μ}m, 1 à 2_{μ}, 1 à 10_{μ}, 3 à 50_{μ}, 4 à $0,1_{\mu}$), nous voyons sur la figure 62, que le délai efficace est le même qu'en milieu normal et que la chute de tension se produit de la même façon dans les deux cas. Sur les 11 expériences èffectuées nous n'avons en général pas constaté de variation du délai du stimulus-étirement permettant d'obtenir l'extra-tension maximum, sauf dans deux cas où ce délai a été ramené de 2 à 1 ms.

Nous pouvons conclure qu'en présence de NO_3^- et de Zn^{++}, l'allongement de la durée de l'état actif à son niveau le plus élevé, se traduit par un plateau décrit par la tension de la secousse sous étirement en fonction du moment d'application de l'étirement. En présence d'uranyle, comme en milieu normal, la courbe présente un pic avec une valeur particulière, cette valeur se situe en général à 2 ou 3 ms après l'instant de la stimulation.

VI-4. Activation mécanique maximale lors du tétanos isométrique.

Si nous appliquons un étirement convenable pendant le plateau d'un tétanos isométrique nous pouvons recueillir un surcroît de tension. L'étude de cette extra-tension en fonction de la vitesse de l'étirement n'a pas été effectuée pour les mêmes raisons que précédemment : nous avons choisi la vitesse la plus grande d'étirement (7, 22 cm. s^{-1}), tension pour laquelle nous obtenons la plus grande tension pour un étirement d'amplitude donné. Les étirements varient de 5 à 15%, l'extra-tension (50% de P_o environ) varie peu en fonction de l'amplitude de l'étirement ainsi que la figure 64 le montre. De plus nous avons appliqué aussi bien en milieu normal qu'en présence de nitrate, de zinc ou d'uranyle, cette technique. Les figures 63 et 64 indiquent clairement que l'adjonction des agents renforçateurs ne modifie pratiquement pas la réponse mécanique. Nous pensons ainsi

avoir montré que pendant le plateau d'un tétanos isométrique l'activation mécanique ou le degré de l'état actif, atteint bien un maximum comme HILL l'avait indiqué chez la Grenouille. De même un autre fait vient appuyer cette conclusion : lorsque nous raccourcissons rapidement le muscle pendant le plateau d'un tétanos isométrique, la chute de tension est sensiblement la même en milieu normal et en présence d'agents renforçateurs (figures 63 et 65). Seule semble légèrement modifiée la reprise de tension, comme l'est par ailleurs la montée en tension du tétanos isométrique. Enfin nous avons porté sur un graphique les tensions enregistrées lors d'une part, d'étirements et, d'autre part, de relâchements d'amplitude croissante, en fonction des variations de longueur pour un même muscle (diaphragme de Rat à 37°C). Les tensions sont rapportées à la tension tétanique (P_o) fournie par le muscle à la longueur de référence (l_o) :

diagrammes $\frac{P_1}{P_o}$ et $\frac{P_2}{P_o}$ en fonction de $y = \Delta l$. Nous avons essayé d'interpréter ces relations en fonction des résultats de HUXLEY et SIMMONS (1971). Si l'allure générale des courbes est voisine, il convient de noter que , et l'échelle des temps et l'échelle des longueurs, sont très différentes. Si $\frac{P_2}{P_o}$, reprise de tension après la variation de longueur est proche de son homologue chez la Grenouille (rapport $\frac{T_2}{T_o}$ de HUXLEY et SIMMONS) $\frac{P_1}{P_o}$, compte tenu du décours de la chute de tension, ne peut être attribuée à la seule détente élastique des ponts. Dans nos conditions expérimentales, il est illusoire de poursuivre plus avant l'interprétation des résultats. Mais, en utilisant une préparation ne comportant qu'un nombre restreint de fibres, voire une fibre unique, il serait très intéressant de rechercher l'analogie entre le comportement du muscle de Grenouille et celui de Mammifère, et de déterminer l'influence sur les caractéristiques de ce dernier (h , α , y_o , $E_1 - E_2$ définis par HUXLEY et SIMMONS, voir annexes n° II - III - IV) de la température et des modifications du milieu de survie, en particulier par les agents renforçateurs.

VII - Etude de la phase de relaxation de la secousse.

VII-1. Validité de la caractérisation de la relaxation de la secousse par la pente m, et les autres paramètres de la droite.

Au chapitre III "Techniques", nous avons exposé la méthode graphique d'obtention de la droite caractéristique de la phase exponentielle

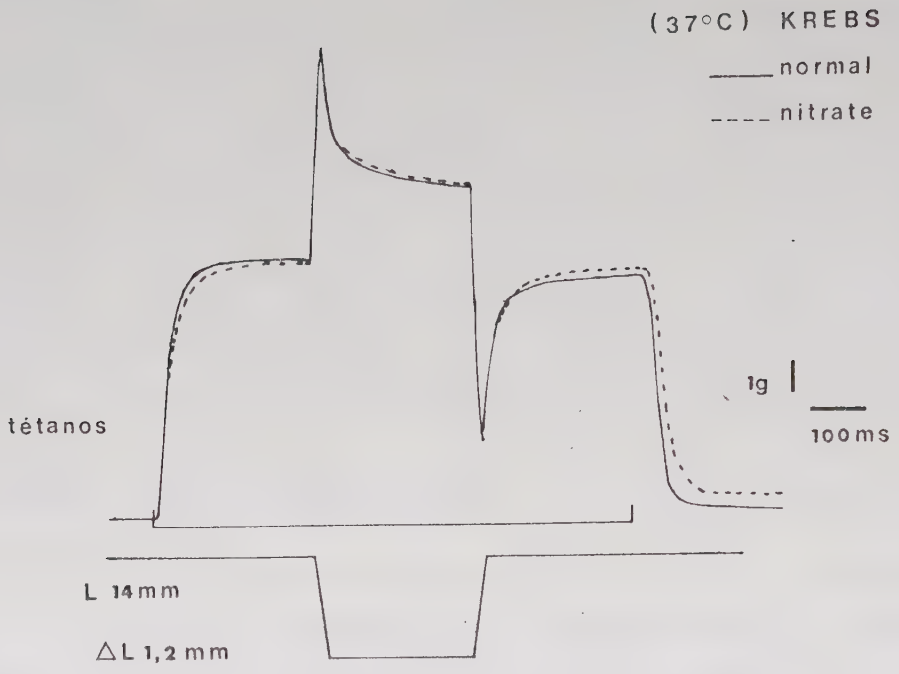


Figure 63 - Tracés superposés : tétanos à la longueur lo (L) en milieu normal et nitrate, et auquel est appliqué un brusque changement de longueur ($_{\Delta}$L) 300 ms après le début de la stimulation, puis ramené à la longueur initiale (300 ms après le début de l'étirement). Le muscle est stimulé à 250 chocs par seconde pendant 900 ms.
Vitesse de l'étirement : 7, 22 cm. sec^{-1}.

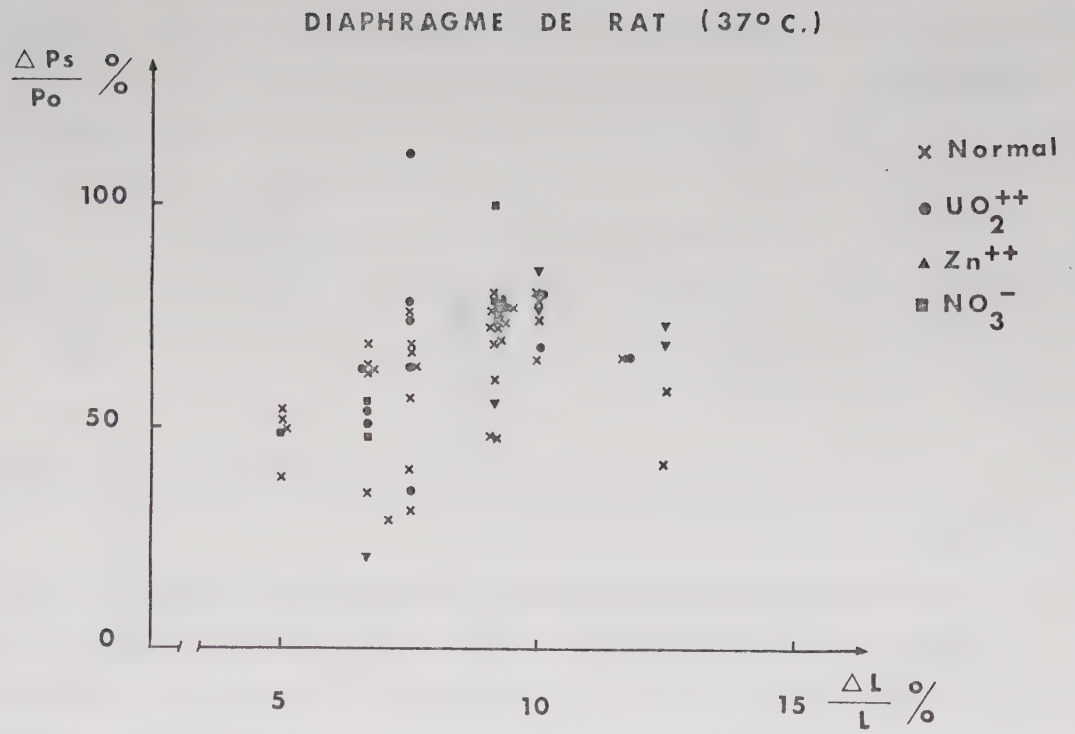


Figure 64 - Extra-tension produite par des étirements de longueur croissante (allongements rapportés à la longueur initiale, lo) pendant le plateau d'une contraction tétanique en milieu normal et en milieu nitrate (substitution totale au chlore), milieu uranyle (concentrations en acétate d'uranyle de 1 μM/l à 0, 1 mM/l) et milieu zinc (concentration en chlorure de zinc de 0, 05 à 0, 2 mM/l).

de la relaxation (chute de la tension de 50 à 10%). Sur 200 enregistrements étudiés, nous n'avons pu tracer de droite que dans deux cas, l'un concerne une expérience effectuée sur le muscle diaphragme, au retour en milieu normal après action du zinc . Nous relions cette impossibilité au fait que la "secousse" n'était plus une vraie secousse, mais plutôt un bref tétanos dans le cas d'un certain nombre de fibres du lambeau. Dans le deuxième cas d'impossibilité, il s'agit de l'expérience du 2-6-69, milieu de base hypocalcique (0, 1 mM de Ca^{++}), le point d'inflexion apparaissant pour la valeur t_{50} de la chute de tension . D'autre part, nous avons pu constater qu'au cours d'une même expérience, la pente des droites correspondant à des secousses enregistrées à des instants divers de l'expérience sont identiques. Cette bonne reproductibilité est un des critères fondamentaux de validité de l'interprétation des résultats.

VII-2. Les paramètres m et P_D de la droite ont des valeurs caractéristiques selon le type de muscle.

Nous avons exposé dans l'introduction de ce travail, les diverses méthodes : physiologiques, anatomiques, histochimiques permettant de classer les muscle en muscles phasiques ou rapides, et toniques ou lents. Les figures 73 et 74 tracées à l'aide des enregistrements publiés par CLOSE et HOH (1968) donnent les diverses valeurs des paramètres étudiés pour les deux types de muscles. Nous voyons qu'à 35°C la pente m pour le soléaire est de 32, 2 s^{-1}, et pour l'E. L. D. de 196, 42 s^{-1}. Nous avons effectué la moyenne des pentes enregistrées par nous chez le diaphragme à 37°C nous obtenons : 28, 26 $\pm$ 1, 15 s^{-1} et pour le lombrical à 37°C, 54, 68 $\pm$ 2, 46 s^{-1}. Nous voyons donc que le diaphragme est plus proche du type soléaire lent que le lombrical. Ceci est en bon accord avec l'étude anatomique et histochimique des deux muscles. Les valeurs extrêmes sont chez le diaphragme : 17, 066 s^{-1} et 46, 29 s^{-1} à 37°C et chez le lombrical : 41, 86 s^{-1} et 129, 60 s^{-1}. Nous avons de même calculé la valeur moyenne de la pente de l'E. L. D. IV de la Grenouille à 20°C, dans le cas de nos expériences, où nous avons m = 60, 21 $\pm$ 4, 23 s^{-1}.

La pente m n'est pas le seul paramètre représentatif du type de muscle. Dans le cas du diaphragme, tous les points en milieu normal s'alignent sur la droite, en général, ce qui se traduit pas un point de décrochement en P_D pour une tension inférieure à 10%, noté dans les tableaux I à

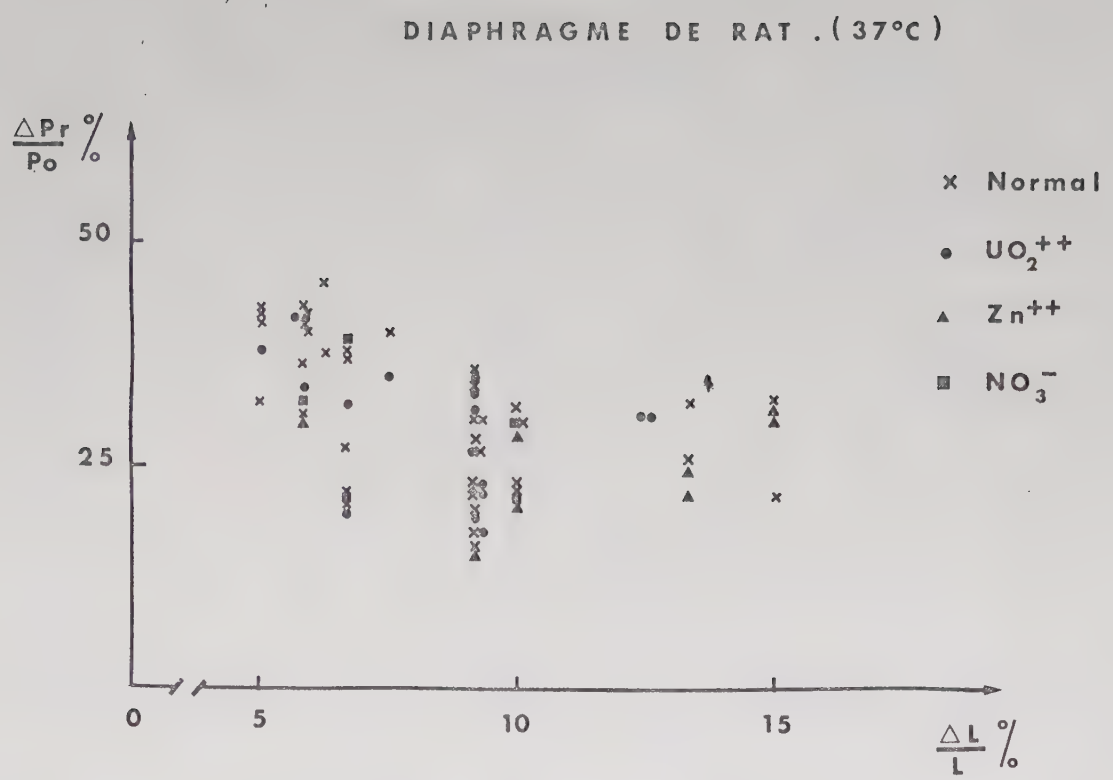


Figure 65 - Valeur relative minimum de la tension pendant la chute de tension succédant à des relâchements de longueur croissante (rapportés à lo) en milieu normal et en présence de divers agents renforçateurs à des concentrations identiques à celles de la figure 64.

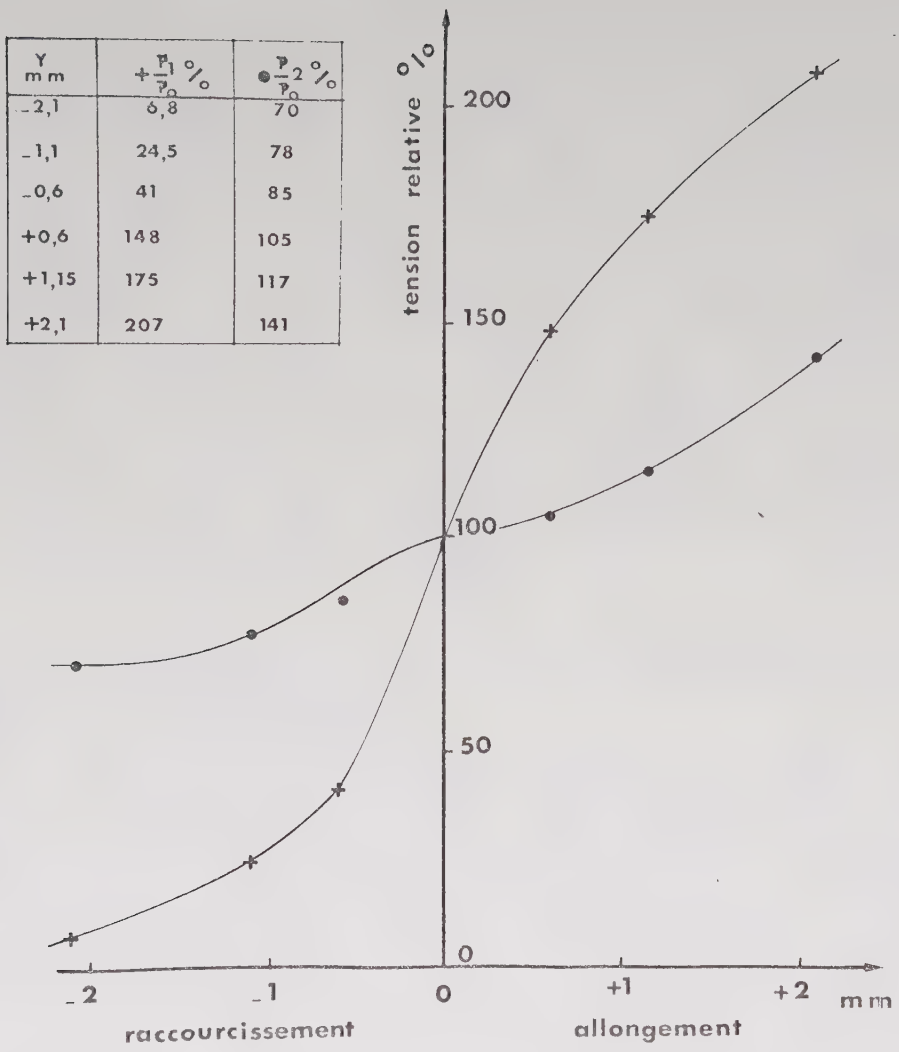


Figure 66 - Représentation graphique des variations de tension produites par des variations de longueur pendant le plateau d'un tétanos isométrique, d'un lambeau de diaphragme de Rat à 37°C.
Longueur initiale lo = 14 mm.
P_1 est la tension recueillie à la fin de la variation de longueur, P_2 est la tension tétanique à la nouvelle longueur du muscle. (Les tensions sont rapportées à la tension tétanique Po à la longueur lo prise égale à 100).

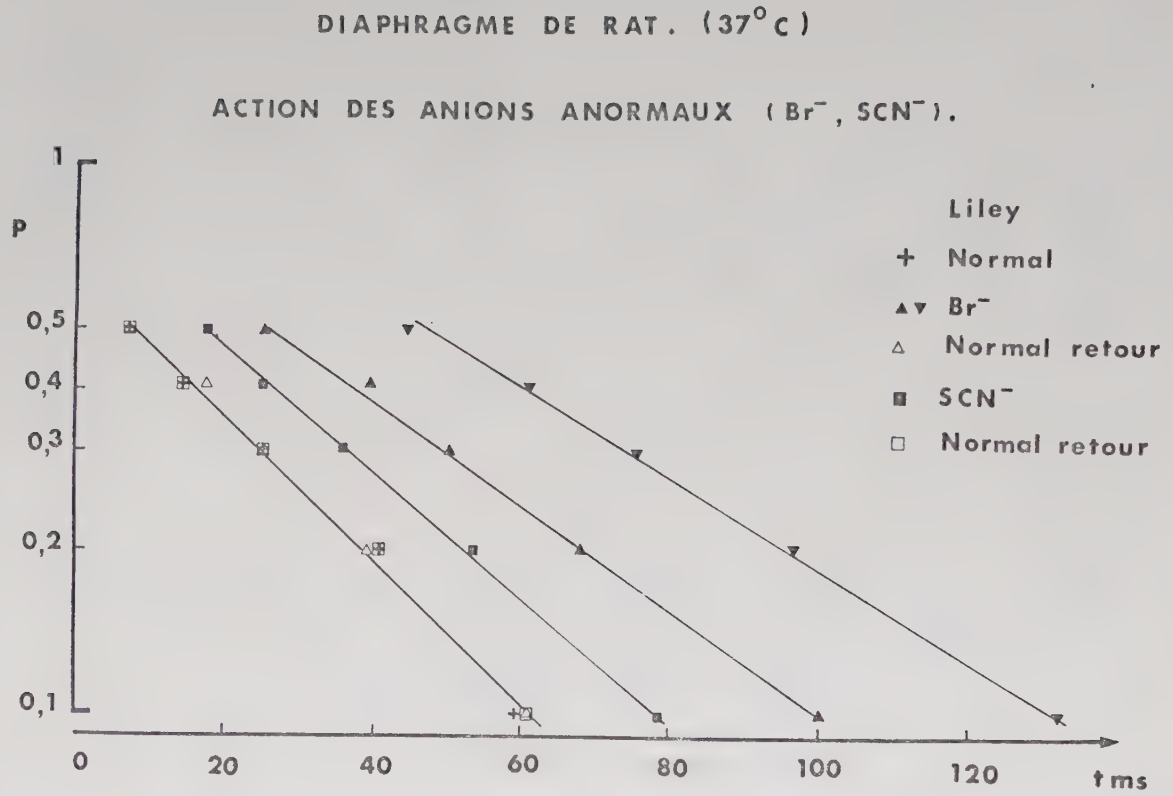


Figure 67 - Représentation graphique de la seconde phase de la relaxation de la secousse. Le temps écoulé à partir du début de la relaxation est porté en abscisse. La tension rapportée à la tension du sommet de la secousse est portée en ordonnée (à partir de 50%) en coordonnées logarithmiques (voir figure n°33). On note la reproductibilité du phénomène illustré par la superposition des courbes en milieu normal ($+_{\Delta}$). Les pentes des droites (m) sont portées dans le tableau VI.

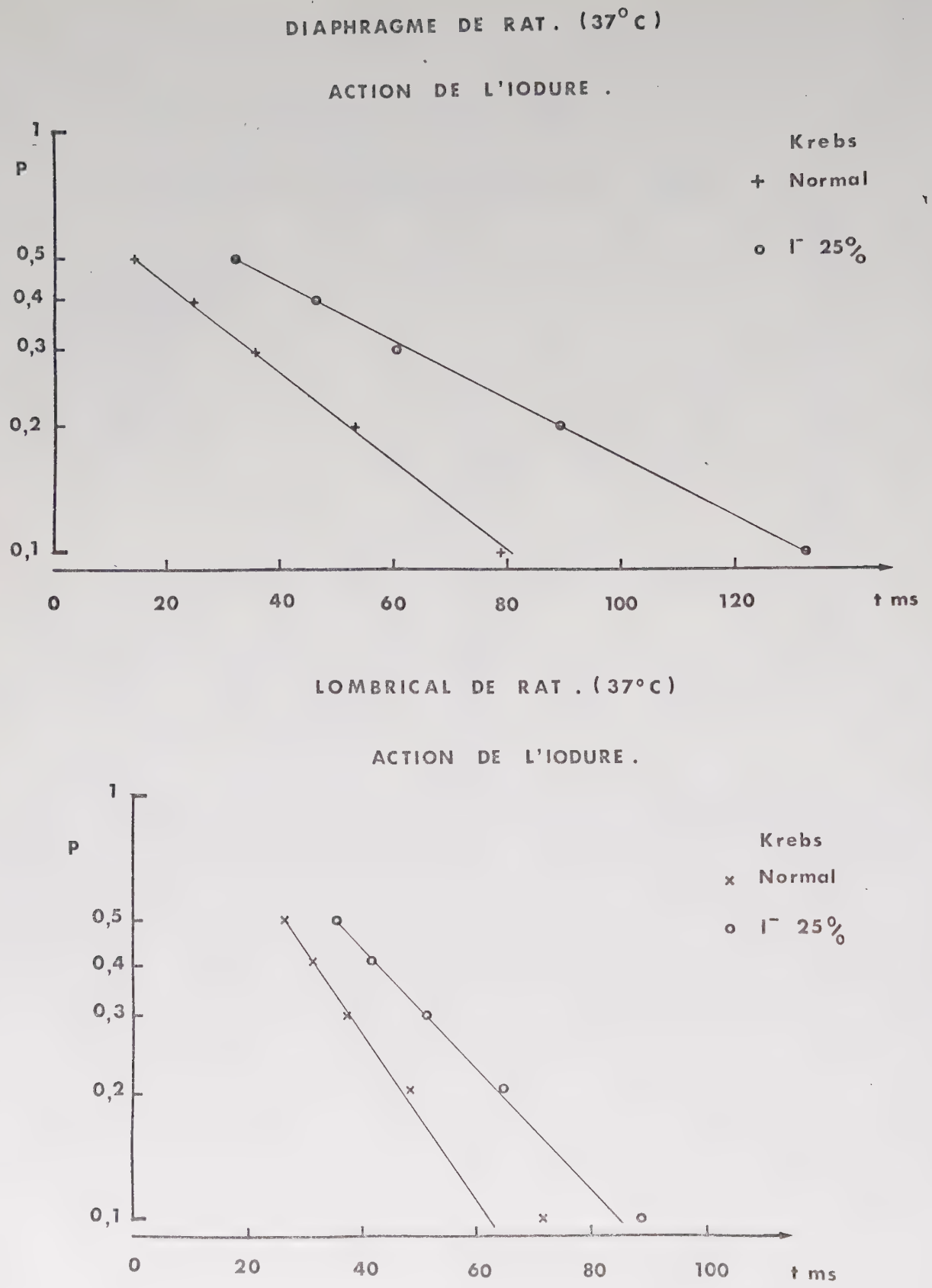


Figure 68 - Influence de l'iodure (substitué à 25% au chlore du milieu normal) sur la phase de relaxation de la secousse. Les pentes des droites sont portées dans le tableau II.

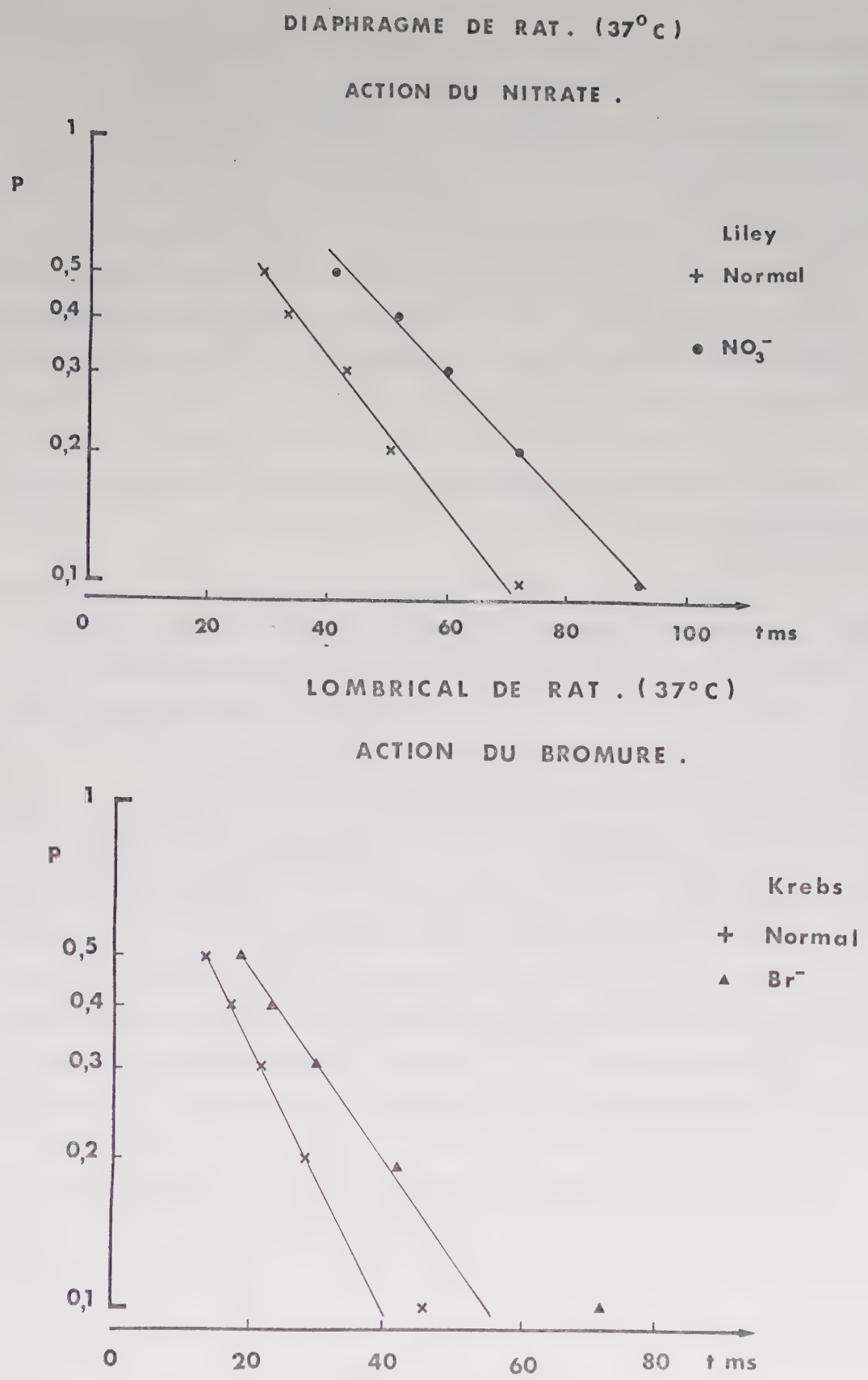


Figure 69 - Influence de la substitution totale au chlore du milieu de survie du bromure sur la phase de relaxation de la secousse du diaphragme (1) et du lombrical de Rat (2). Les pentes des droites sont portées dans le tableau III.

XIII par $P_D < 0,1$. Dans le cas du lombrical, nous avons souvent une rupture de pente. m caractérise la pente de la droite passant par les points correspondant aux valeurs de la tension 50%, 40%, 30%; le point de décrochement se situant souvent entre 30 et 20% . t_D, temps pour lequel se produit la variation de pente, est allongé lorsque la pente diminue. Il en est de même pour le t_{50}, ces deux paramètres variant dans le même sens que la pente. Il est intéressant de constater, à l'examen des tableaux, que pour un type de muscle donné, le comportement du muscle est caractérisé d'une manière satisfaisante et très reproductible par les paramètres de la droite (m en particulier).

VII-3. Influence de la concentration en Ca^{++} du milieu sur les paramètres de la droite.

Nous avons vu (IV-6-2) que la diminution en Ca^{++} du milieu physiologique entraînait une diminution de la réponse mécanique avec une diminution de la pente m, soit un ralentissement de la vitesse de relaxation. Les résultats sont portés dans le tableau XIII. Nous constatons que la pente est toujours diminuée, même lorsque l'on enregistre une légère augmentation de tension au début du séjour en milieu hypocalcique, comme c'est le cas au bout de 2 mn dans les expériences pour CAPUTO et GIMENEZ et chez le lombrical, (expérience du 12-5-69). D'ailleurs dans l'expérience de CAPUTO et GIMENEZ, sur fibre unique de L. Ocellatus, le ralentissement est plus net lors de l'augmentation de tension. La diminution de la concentration en Ca^{++} du milieu extérieur entraîne donc un ralentissement du repompage du Ca^{++} sarcoplasmique. Ceci paraît être un facteur de maintien de la réponse mécanique. Les milieux hypercalciques semblent peu modifier la pente (variations inférieures à 10%).

VII-4. Influence des agents renforçateurs sur la pente m.

L'examen du tableau récapitulatif XIV indique que la pente m diminue en présence des agents renforçateurs aussi bien chez le diaphragme que chez le lombrical sauf dans le cas du diaphragme en présence d'uranyle. Lorsque le renforcement est minime, soit parce que la concentration de l'ion utilisée est peu efficace, deux exemples sont fournis par le thiocyanate et l'iodure à des concentrations inférieures à 15%, soit parce que l'action est fugace comme dans le cas du nickel chez le diaphragme, les variations de pente sont minimes (inférieures à 15%).

Lorsque nous obtenons des taux de renforcement importants, nous voyons apparaître, à l'examen des tableaux I à XI, un allongement important de la phase ascendante de la secousse et une diminution de pente importante : c'est le cas de l'iodure (II), du bromure (III) chez le diaphragme, du zinc (VII) et (VIII) pour les deux muscles, du cadmium (IX) chez le lombrical. D'autre part, nous observons pour des taux de renforcement moyens ou dans le cas du nitrate (I), du bromure chez le lombrical (III), des variations de pente d'autant plus faible que l'allongement de la phase ascendante de la secousse est plus net. Enfin en présence d'uranyle (XI) et (XII) le comportement des deux muscles est très différent. Dans le cas du diaphragme le renforcement s'accompagne d'une diminution de la durée de la phase ascendante de la secousse et d'une accélération de la phase de relaxation (pouvant aller jusqu'à +50%). Le cadmium a un effet semblable mais moins important chez le diaphragme (IX). A l'inverse, le lombrical en présence d'uranyle, voit s'allonger la durée de la phase de contraction de la secousse et se ralentir la phase de relaxation (XI et XII). Les variations de la pente en présence des divers agents renforçateurs sont illustrées par les figures 67 à 74.

Si nous traduisons cette action des agents renforçateurs en terme d'activation, à un allongement de la durée de l'état actif, correspond un ralentissement de la phase de relaxation. Ce ralentissement paraît lié à un ralentissement de la vitesse de repompage par le réticulum sarcoplasmique du calcium ionisé libre. L'uranyle pose un problème. Aux concentrations utilisées pour lesquelles nous obtenons un taux de renforcement élevé, aucun des paramètres classiques de renforcement (durée du potentiel d'action, seuil mécanique de dépolarisation) n'est modifié. Or, les paramètres de la secousse, durée de la phase ascendante, pente de la phase de relaxation, sont, eux, considérablement modifiés. La constante de vitesse de la relaxation étant augmentée, la vitesse de disparition du calcium dans le sarcoplasme est plus grande. Si cette dernière est d'autant plus élevée que la concentration en ions Ca du sarcoplasme est plus grande (voir chapitre II), ce pourrait être un argument indirect pour une libération d'une plus grande quantité de Ca^{++} lors de l'excitation. Cette interprétation vient renforcer notre argumentation d'une activation mécanique accrue en présence d'uranyle chez le diaphragme. En effet, le lombrical se comporte en présence d'uranyle comme en présence de zinc et répond au schéma classique : allongement de durée de la phase de contraction et ralentissement de la phase de relaxation de la secousse, d'où allongement de la durée de l'é-

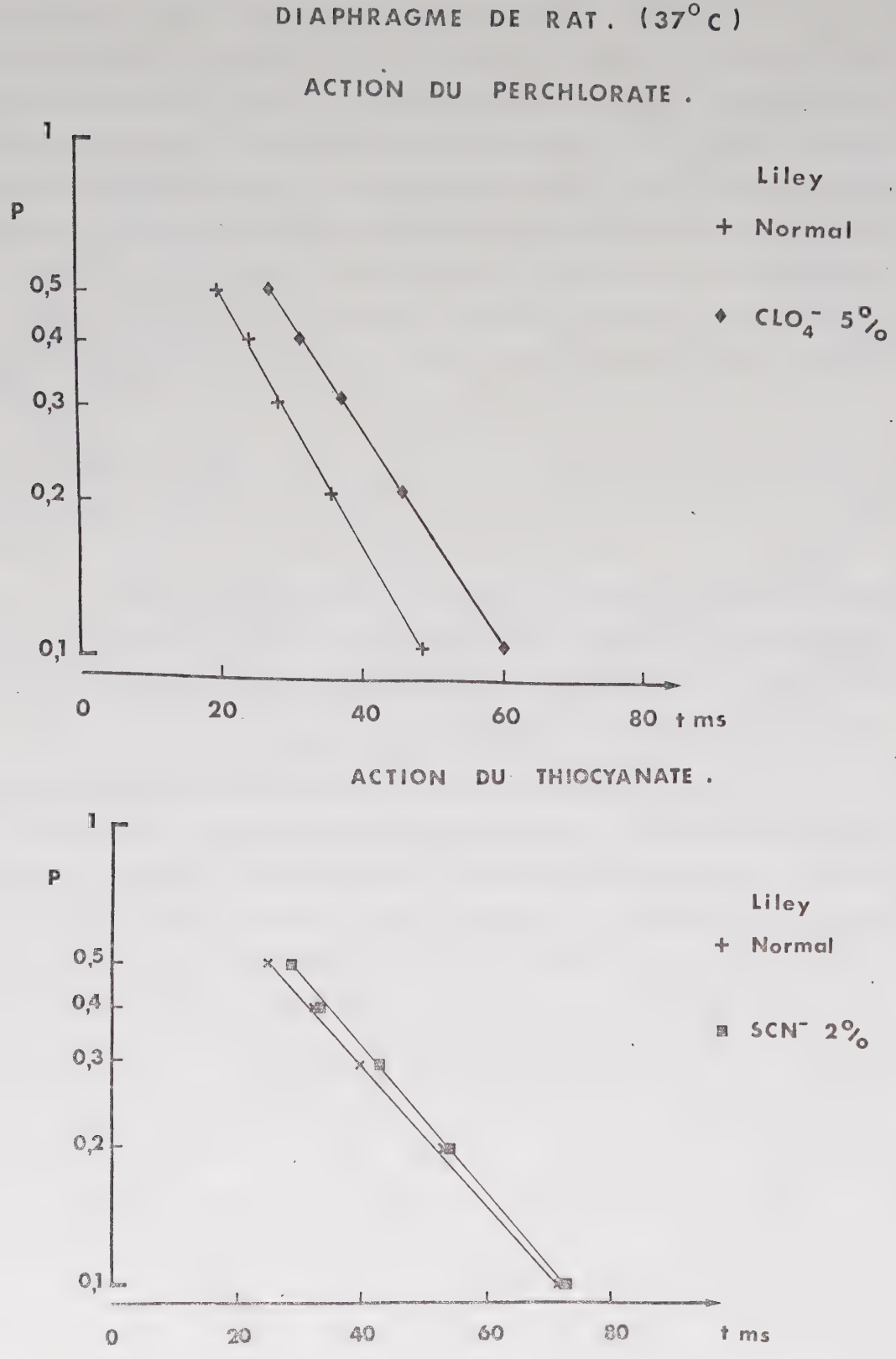


Figure 70 - Influence du thiocyanate (taux de substitution 2%) et du perchlorate (taux de substitution 0,5%) sur la phase de relaxation de la secousse.

Les pentes des droites sont portées dans le tableau IV et V.

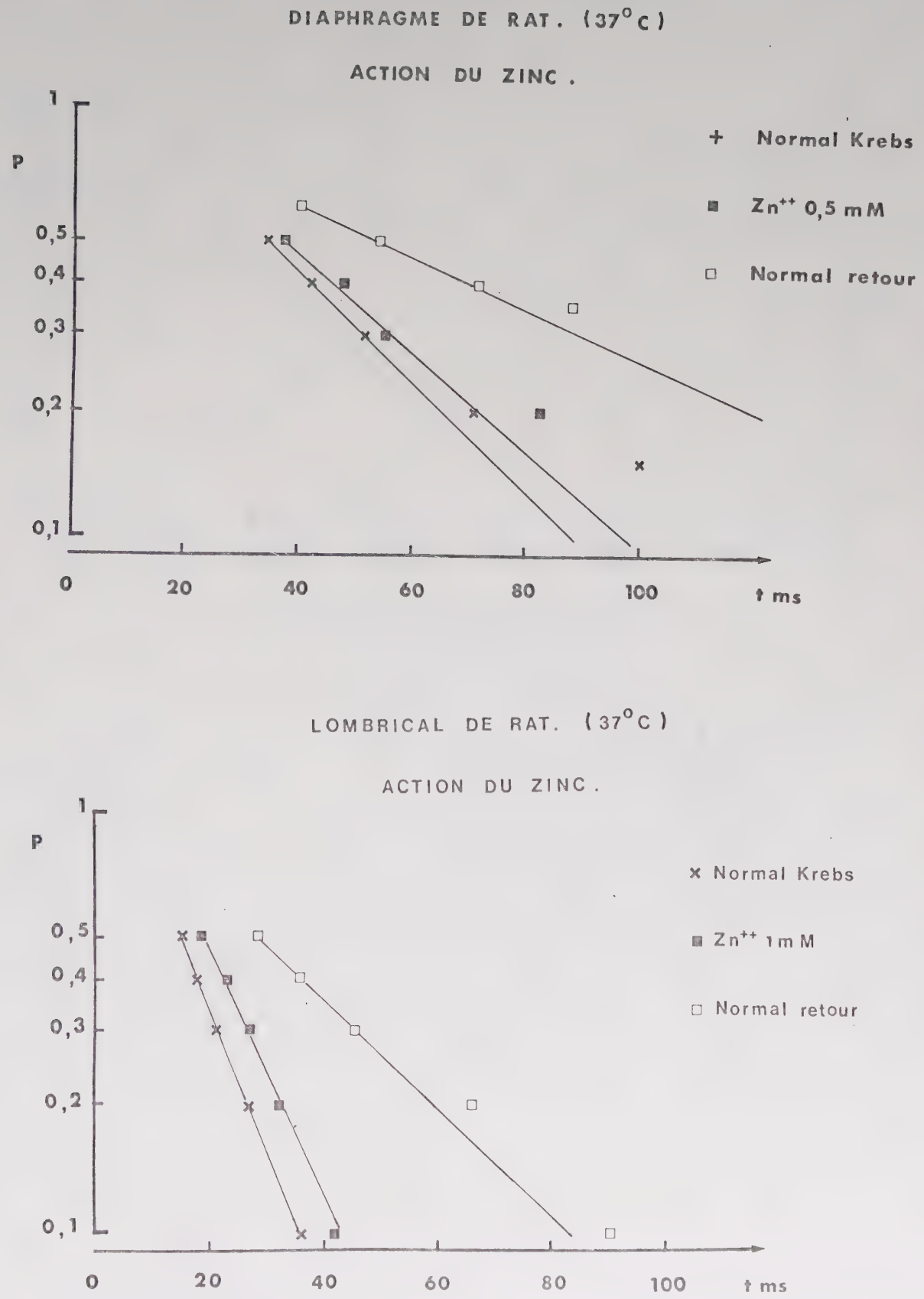


Figure 71 - Influence de l'adjonction de 1 mM/l de chlorure de zinc au milieu de survie sur la phase de relaxation de la secousse des muscles diaphragme (1) et lombrical (2) de Rat.
Les pentes des droites sont portées dans les tableaux VII et VIII.

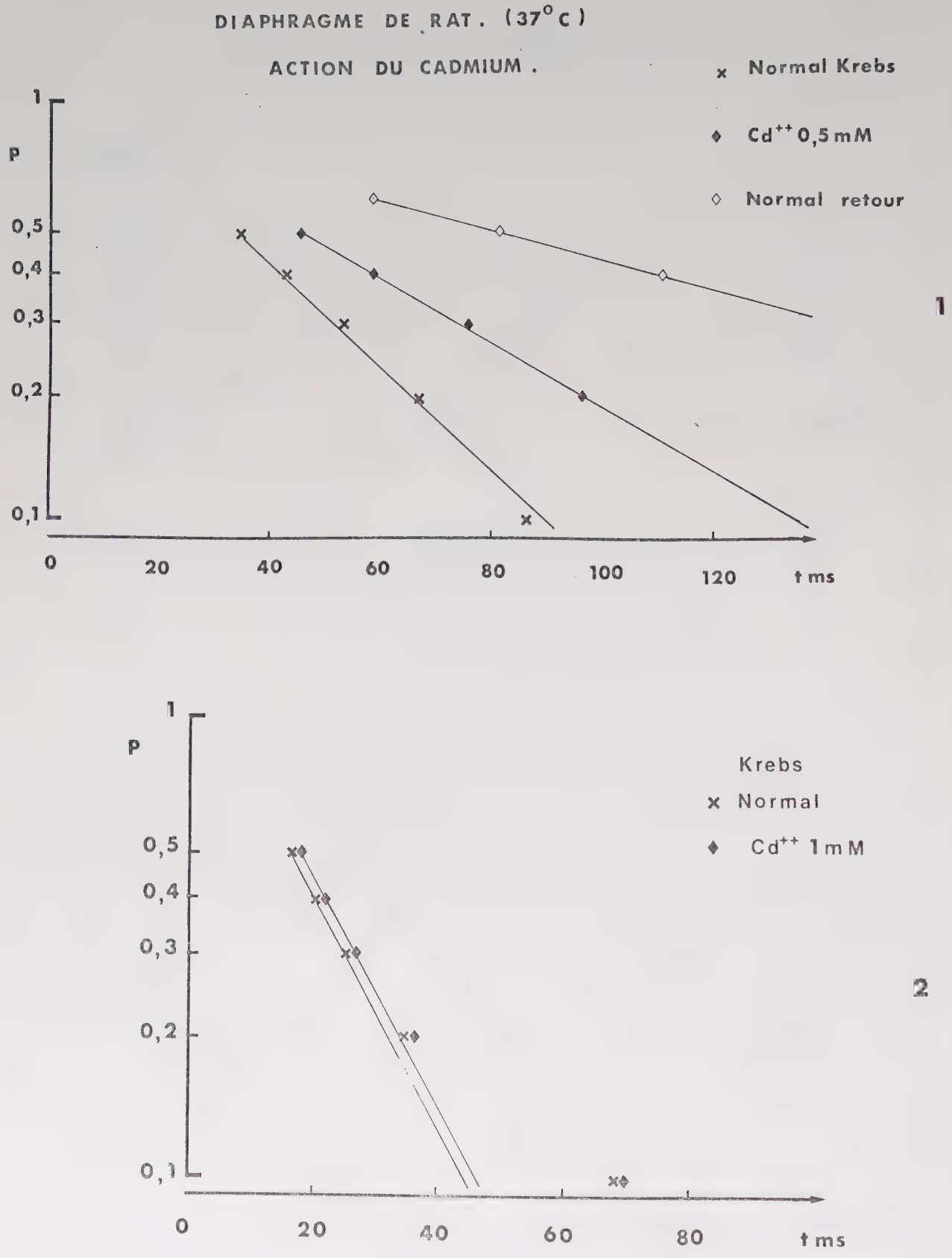


Figure 72 - Influence de l'adjonction de 0, 5 mM/l de chlorure de cadmium au milieu de survie sur la phase de relaxation de la secousse d'un lambeau de diaphragme (1) et de 1 mM/l dans le cas du lombrical (2).
Les pentes des droites sont portées dans le tableau IX.

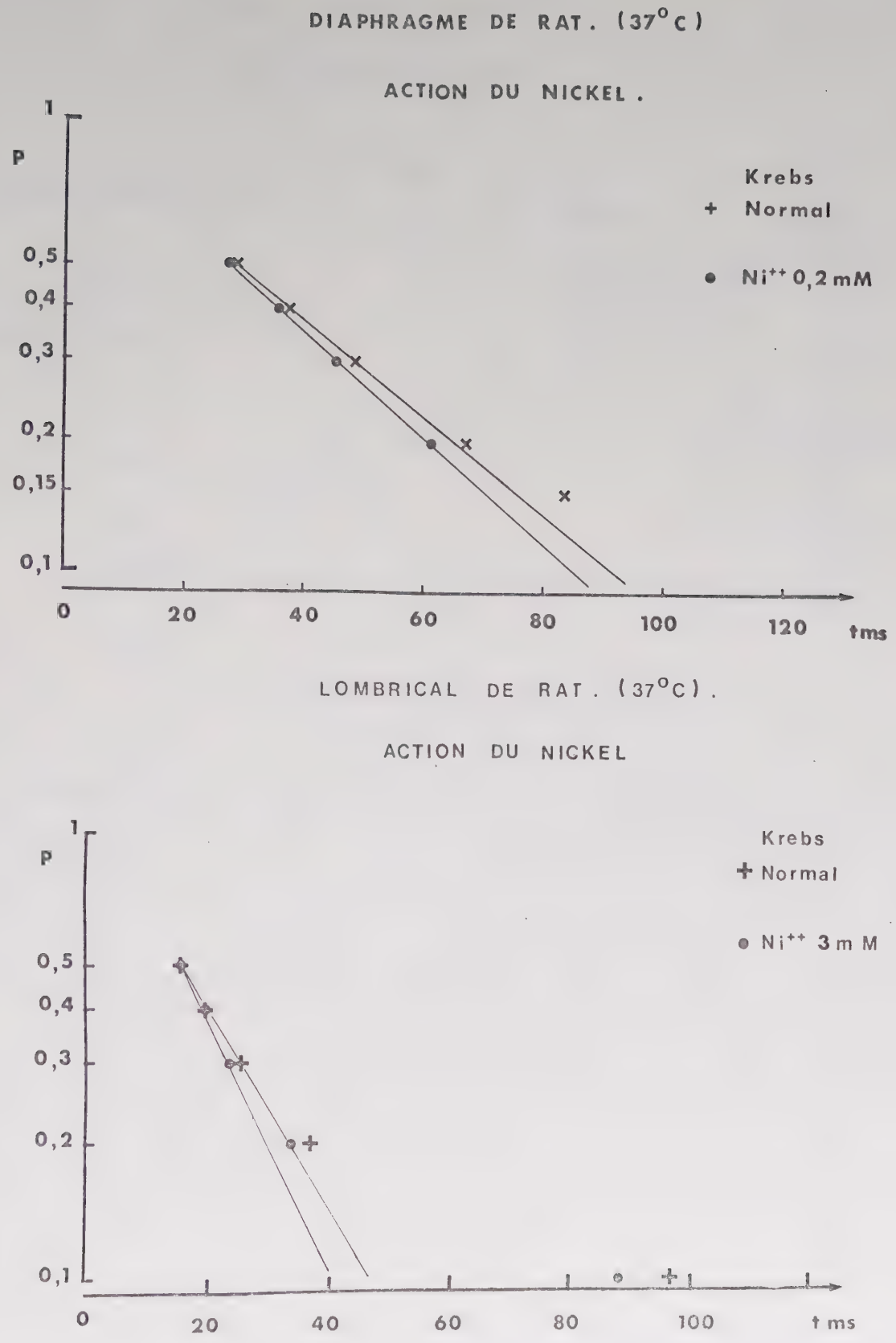


Figure 73 - Influence de l'adjonction de 0, 2 mM/l de chlorure de nickel sur la phase de relaxation de la secousse du diaphragme (1) et de 3 mM/l chez le lombrical (2).
Les pentes des droites sont portées dans le tableau X.

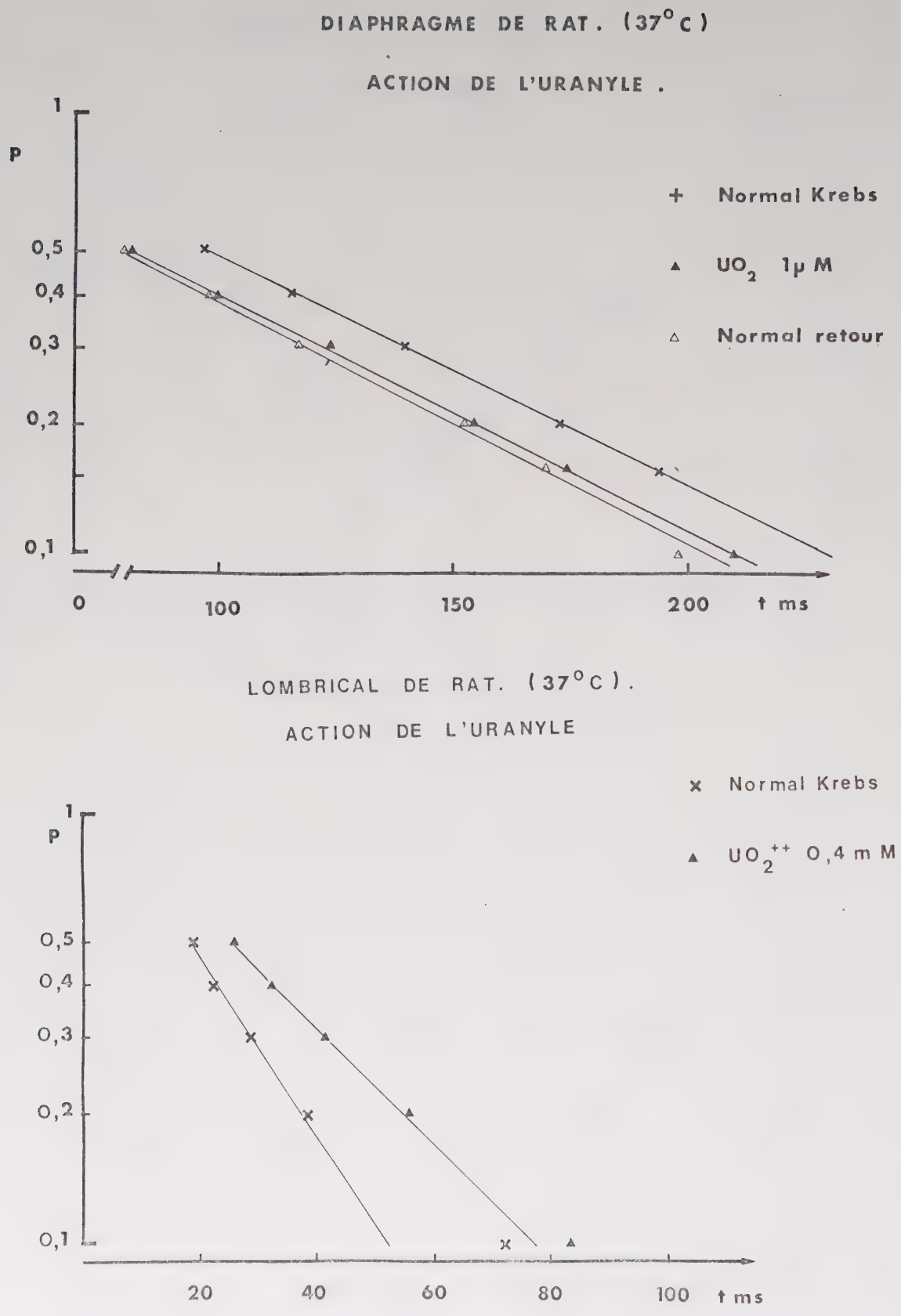


Figure 74 - Influence de l'adjonction de 1µM/l d'acétate d'uranyle sur la phase de relaxation de la secousse chez le diaphragme (1) et de 0,4 mM/l chez le lombrical (2).
Les pentes des droites sont portées dans les tableaux XI et XII.

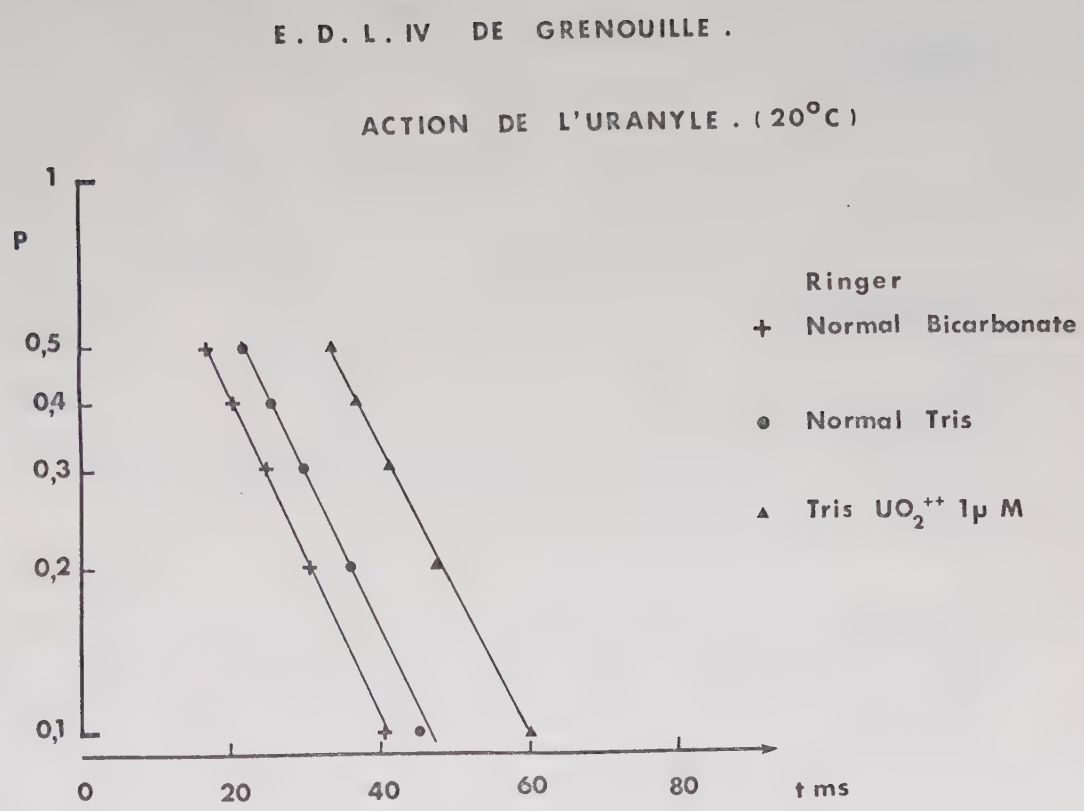


Figure 75 - Influence de l'adjonction de 1µM/l d'acétate d'uranyle sur la phase de relaxation d'un E. D. L. IV de Grenouille à 20°C.

Noter l'absence de modifications apportées par les deux milieux étudiés (milieu de survie tamponné au TRIS et après adjonction d'uranyle) à comparer avec les figures 74 et 76.

Les pentes des droites sont portées dans le tableau XIV.

tat actif. Cet allongement est sous la dépendance à la fois de l'abaissement du seuil mécanique de dépolarisation et du retard à la repolarisation de la membrane maintenant pendant un temps plus long un flux plus élevé de calcium ionisé, et de la vitesse du repompage du calcium libéré par la pompe réticulaire. Tout ralentissement du repompage entraînera un allongement de durée de l'état actif. La réponse mécanique résultante sera fonction de l'importance relative de ces deux réactions.

VII-5. Incidence de la température sur la pente m.

Nous avons cherché à contrôler la validité de nos résultats en les comparant avec ceux que nous avons pu tirer de la littérature. Après avoir constaté la cohérence des uns et des autres, nous avons comparé nos quelques expériences à température variable avec celles que publient CLOSE et HOH (1968) et D.K. HILL (1972), par le moyen de la méthode d'analyse quantitative que nous avons définie plus haut.

Dans nos expériences, la pente m du diaphragme de Rat passe de $28,26 \pm 1,15\ s^{-1}$, à $19,50 \pm 0,83\ s^{-1}$, quand la température varie de 37°C à 22°C. Chez CLOSE et HOH, comme chez D.K. HILL, la pente baisse également avec la température (figures 77, 78, 79). Nous avons poursuivi l'analyse du phénomène en utilisant les données de ces deux auteurs, l'un (HILL) ayant expérimenté de 4°,2 C à 23°, 2C et les autres (CLOSE et HOH) de 20°C à 35°C. Nous avons calculé m pour chaque enregistrement et établi des graphiques représentant m en fonction de la température θ en °C (figures 77, 78, 79). On constate que l'on obtient des décroissances régulières de m avec la température.

Dans le but de comparer entre elles ces différentes séries d'expériences, nous avons rapporté la valeur de m à sa valeur pour 23, 2°C, point de raccordement des gammes de température des deux auteurs. Le rapport M ainsi obtenu a été reporté graphiquement en fonction de la température. On peut constater (courbe O de la figure 75) que M décroît suivant une courbe régulière quand la température baisse de 35°C à 4, 2°C. Il est par ailleurs connu (CLOSE, 1956) que lorsque la température diminue, le temps de contraction du muscle augmente. En outre BARANY a montré que le produit de l'activité de l'ATPase myofibrillaire par le temps de contraction est égal à une constante, en d'autres termes, lorsque le temps de contraction augmente, l'activité de l'ATPase diminue.

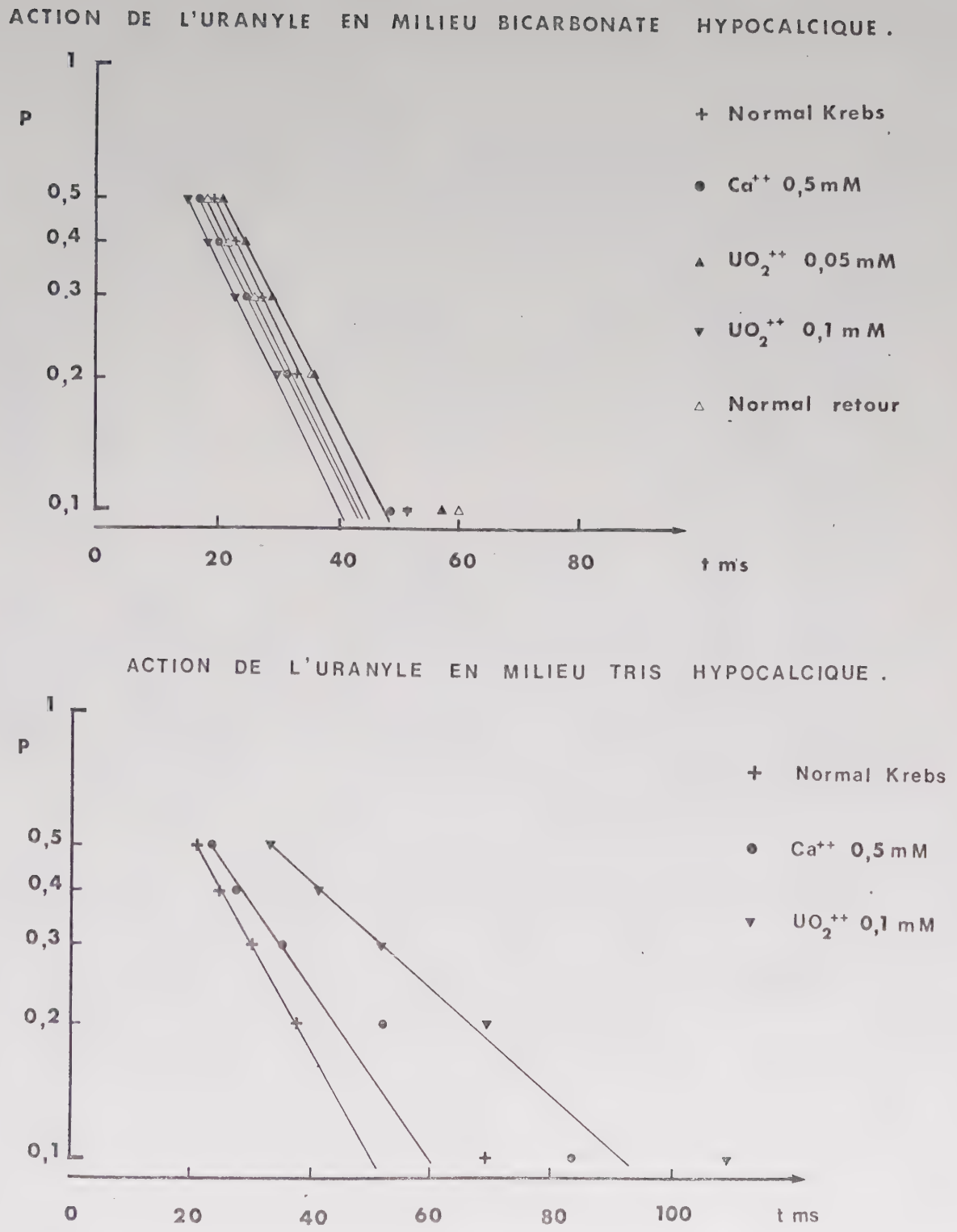


Figure 76- Action de l'uranyle (0, 1mM/l d'acétate d'uranyle) sur la phase de relaxation de la secousse d'un lambeau de lombrical, après diminution de montée de la teneur en calcium du milieu physiologique normal. Noter qu'en milieu tamponné avec du bicarbonate, les droites peuvent se superposer alors qu'en présence de Tris, on note une diminution importante de la pente. Les pentes sont portées dans le tableau XII.

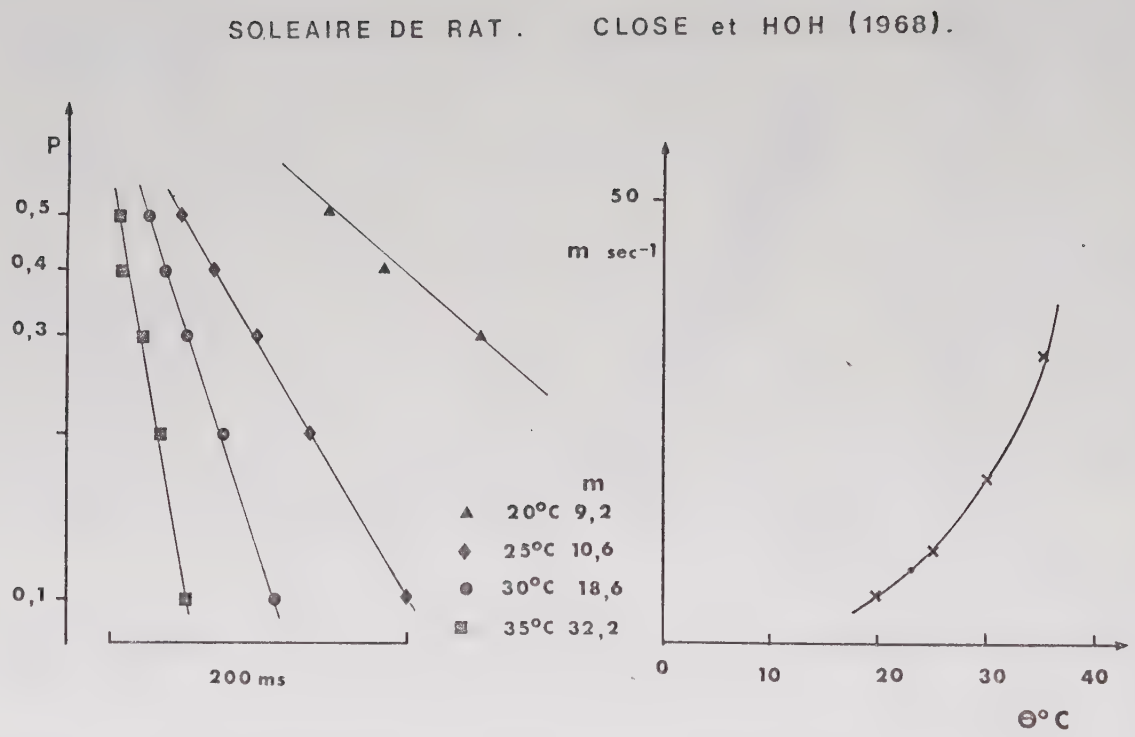


Figure 77 - Variation de la constante de vitesse de la relaxation de la secousse du soléaire de Rat à diverses températures.

(Expériences de CLOSE et HOH, 1968).

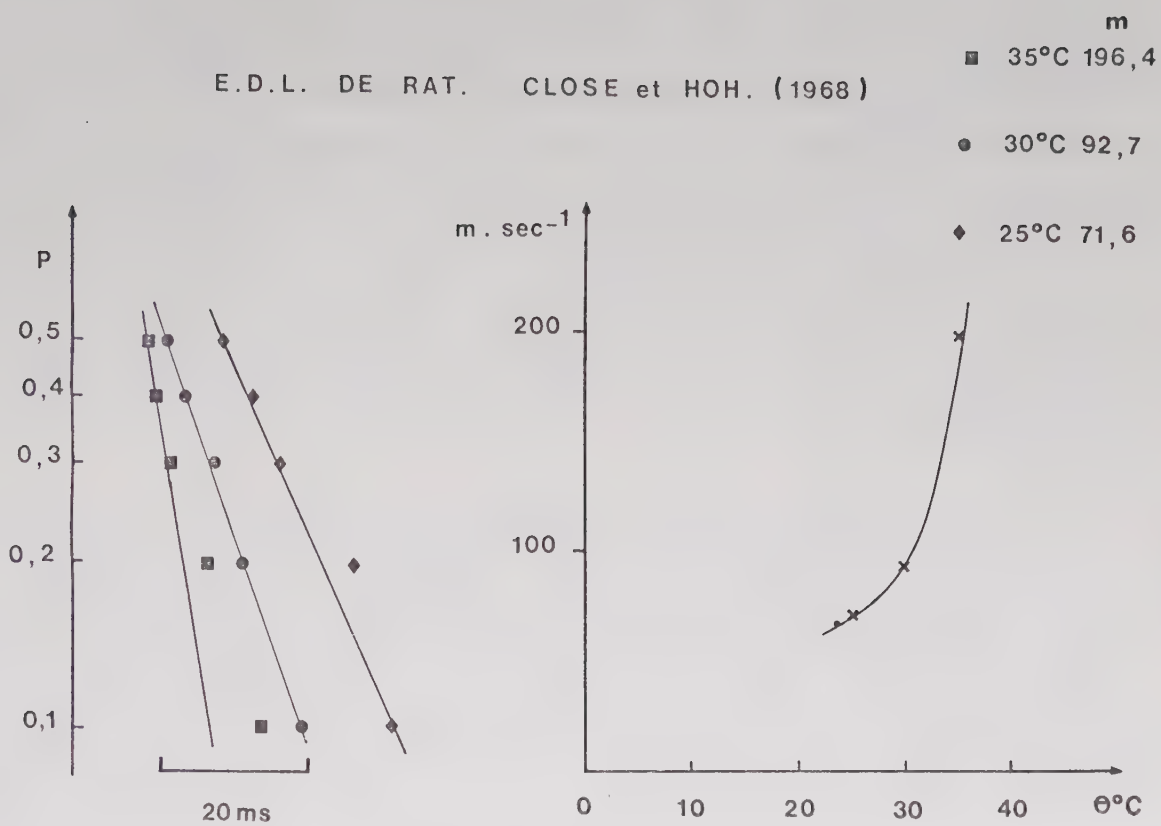


Figure 78 - Variation de la constante de vitesse de la relaxation de l'E. D. L. de Rat en fonction de la température. (Expériences de CLOSE et HOH, 1968).

Dans ces conditions il était logique de rechercher une corrélation entre les relations liant la pente et la température d'une part, et l'activité de l'ATPase myofibrillaire et la température d'autre part. Cette dernière relation a été étudiée par MURPHY et HASSELBACH (1968). De même que nous avons rapporté les pentes à leur valeur à 23, 2°C, nous avons rapporté l'activité de l'ATPase myofibrillaire (phase lente, pour une concentration en Ca^{++} de $1,2 \times 10^{-5}$) obtenue par MURPHY et HASSELBACH à son niveau correspondant à 23, 2°C (rapport A) et reporté graphiquement A en fonction de la température (courbe en O, figure 80). On constate que le Q_{10} est de 3, que A est croissant avec la température de 20 à 37°C puis décroissant de 37°C à 40°C, et enfin que les courbes A et M sont très comparables. Celles-ci sont même pratiquement confondues. La corrélation cherchée est spectaculaire puisqu'elle se traduit pratiquement par une identité.

Ce fait mérite une interprétation particulière : on se souvient que, suivant les hypothèses de D. K. HILL que nous avons reprises, m(ou M) serait la constante de vitesse de la disparition du calcium ionisé activateur. Le taux de calcium ionisé libre dans le sarcoplasme est lié au fonctionnement de la pompe réticulaire d'une part, et à la réponse mécano-énergétique d'autre part, formation et rupture des liaisons acto-myosiques sous la dépendance de l'activité ATPasique myofibrillaire. Il est intéressant de noter l'identité des fonctions $M(\theta)$ et $A(\theta)$.

La phase de relaxation, caractérisée par la pente m, est très sensible à divers agents physico-chimiques : la température, les ions renforçateurs de la secousse, les modifications de la concentration en Ca^{++} du milieu...

Dans un système visco-élastique passif (voir annexe I) dont le comportement est de type exponentiel, la pente est analogue à $\frac{K}{\mu}$, K étant un module de rigidité et μ une viscosité. Selon JEWELL et WILKIE (1958) l'élément élastique en série du muscle de Grenouille est peu sensible aux variations de température. La viscosité devrait donc être seule responsable du phénomène. Or nous avons mis en évidence l'identité de la sensibilité à la température de la pente m d'une part et de l'activité ATPasique, phénomène énergétique d'autre part. Par ailleurs, dans la représentation mécano-énergétique de HUXLEY et SIMMONS (1971), les phénomènes énergétiques au niveau des ponts se traduisent en fait dans les équations qui les

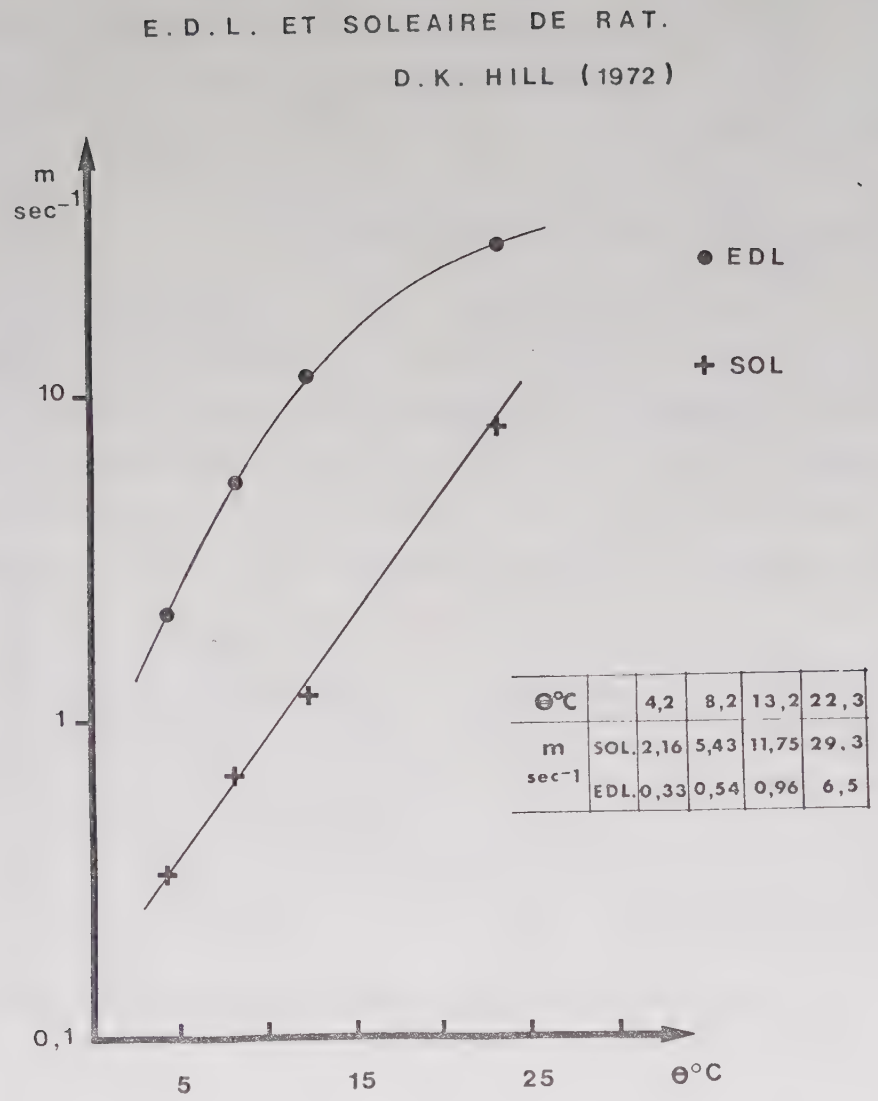


Figure 79- Variation de la pente m de la droite caractéristique de la phase de relaxation de la secousse des muscles soléaires et E. D. L. de Rat en fonction de la température.
(Expériences de D.K. HILL, 1972).

décrivent par une viscosité apparente. Pour ces diverses raisons nous pensons devoir rejeter une représentation par un système visco-élastique "passif", c'est à dire ne faisant appel qu'à une combinaison de ressorts et d'amortisseurs, au bénéfice d'un système "actif", c'est à dire incluant la production d'énergie.

VIII - Interprétation des résultats obtenus.

Chez le diaphragme à 37°C, il ressort de l'ensemble de l'expérimentation que, pendant une secousse isométrique maximale, le degré d'activation mécanique est inférieur au maximum atteint pendant le tétanos isométrique. Il ressort aussi que ce degré d'activation est augmenté en présence d'uranyle, ce que nous interprétons comme une augmentation de la quantité de calcium libéré par l'excitation lors d'un stimulus unique.

Nos expériences montrent par ailleurs, dans tous les cas, soit un net raccourcissement de la phase ascendante de la secousse isométrique, soit, au pire, une durée inchangée de cette dernière, au moins pour les faibles concentrations en uranyle. En ce qui concerne la relaxation, celle-ci est soit accélérée (tableau XI), sous l'influence de concentration d'uranyle voisine de 1 μM/l, soit ne subit pas de modifications comme dans nos expériences de Louvain utilisant des concentrations de 50 μM/l et 100 μM/l.

Ceci pourrait signifier que l'uranyle, selon la concentration, influencerait la libération et le repompage du calcium de façon différente.

Nos expériences ne nous permettent pas de proposer une interprétation concernant les variations observées en présence de concentrations différentes en uranyle. Il est certain que cette question devra faire l'objet de nouvelles recherches.

L'interprétation du phénomène de renforcement en présence d'uranyle chez le diaphragme à 37°C, nous avait conduit à émettre l'hypothèse d'une activation mécanique modulable que les résultats expérimentaux que nous venons d'exposer viennent renforcer. WILANDER (1965) étudiant la durée de l'état actif chez le gastrocnémien de Rat, émet l'hypothèse d'une vitesse de développement de l'état actif variable, et pouvant être accrue dans certaines conditions. De même, DESMEDT et HAINAUT (1968) étudiant la potentiation post-tétanique de l'adducteur du pouce chez l'Homme, mettent en défaut la conception classique de A. V. HILL. Comme chez le diaphragme à 37°C en présence d'uranyle, ils observent une augmentation de tension

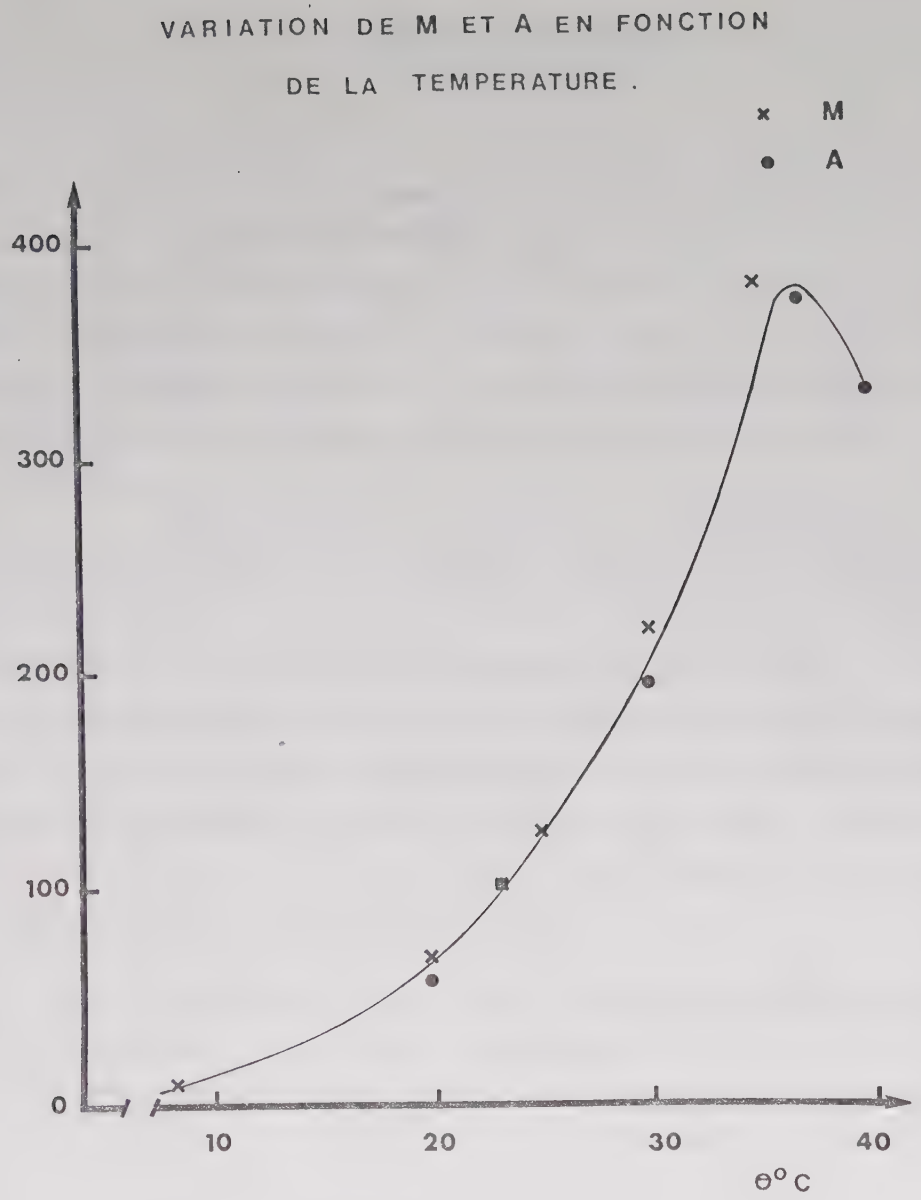


Figure 80 - M est la constante de vitesse de la relaxation de la secousse du Soléaire de Rat (CLOSE et HOH, 1968) en fonction de la température, rapportée à la valeur de cette constante à 23, 2°C.
A est le taux d'activité de l'ATPase de myofibrilles isolées de Lapin en fonction de la température rapportée à l'activité de l'ATPase à 23, 2°C (MURPHY et HASSELBACH, 1968).

de la secousse accompagnée d'une diminution de la durée de la phase ascendante. Dans le travail de TAYLOR, décrit dans l'introduction, la durée de la phase ascendante de la courbe modèle de la secousse en présence de potentiateur de type A, est diminuée, ce qui n'est d'ailleurs le cas ni chez la Grenouille, ni chez le Rat. Elle est toutefois allongée en présence des potentiateurs de type B. Dans le premier cas ce sont les variations du seuil mécanique de dépolarisation qui en gouvernent la durée, dans le second la durée du potentiel d'action. Ce modèle s'éloigne des faits observés chez la Grenouille. En revanche, il présente un intérêt certain dans la mesure où il indique une possibilité de vitesse d'établissement de l'état actif plus ou moins grande, donc de libération d'une quantité de calcium plus ou moins importante à un instant donné de la montée en tension de la secousse.

D'autre part, chez le diaphragme à 37°C ainsi que chez le lombrical, les résultats expérimentaux obtenus permettent d'attribuer au maintien d'un taux de calcium élevé pendant plus longtemps le renforcement observé, ce qui se traduit en termes classiques par un allongement de la durée de l'état actif.

Ainsi, cette étude quantitative des divers paramètres de la secousse renforcée, y compris l'étude de la phase de relaxation que peu d'auteurs se sont attachés à caractériser, permet de mieux cerner les divers facteurs entrant en jeu dans le couplage entre l'excitation et la contraction chez le muscle de Mammifère.

———— 0 ————

CONCLUSION

Chez le Mammifère peu de travaux ont porté sur l'étude des évènement permettant à l'excitation de piloter la contraction musculaire, et moins encore sur les facteurs qui en modifient la dynamique. Ainsi que nous l'avons exposé dans l'introduction dde ce travail, la majorité des connaissances concernant les processus en couplage excitation-contraction ont été obtenus chez la Grenouille, et, en ce qui concerne l'étude des phénomènes mécaniques, à basse température (0°C).

D'autre part, la plupart des connaissances sur le rôle important du calcium et de l'ATP ont été obtenus à partir d'éléments isolés de la fibre musculaire de Lapin. Une étude du muscle de Mammifère en survie est un lien entre ces deux grands domaines expérimentaux. Aussi, nous nous sommes attachée à caractériser quantitativement la réponse électrique et mécanique des muscles diaphragme et lombrical de Rat, à 37°C, dans des conditions de survie normales d'une part, et d'autre part modifiées par l'adjonction d'un certain nombre d'ions connus pour provoquer le renforcement de la secousse chez la Grenouille.

La figure 81a, SANDOW (1964), résume les rapports existant entre le degré d'activation (représentation théorique selon HILL de la quantité de calcium activateur), son décours temporel et la réponse mécanique chez la Grenouille. Pendant une secousse isométrique maximale, l'élément contractile de la fibre musculaire est pleinement actif et seule la brièveté de la réponse empêche la contraction d'atteindre le maximum obtenu lors d'un tétanos. L'adjonction des agents renforçateurs, qui provoque une prolongation de la durée de l'activation, va permettre un développement plus intense et plus long de la tension. Nous avons résumé l'ensemble de nos résultats dans les schéma b et c de la figure 81. Un premier point important apparaît : lors de la secousse isométrique maximale, chez le Mammifère à 37°C, le degré d'activation n'est pas maximum, et sur les deux schémas nous avons limité ce degré d'activation à la valeur expérimentale de 65% (VI-2) de la tension tétanique. En b, nous avons figuré le renforcement de la secousse dans le cas où nous observons à la fois une augmentation de tension et un allongement de la durée de l'état actif. C'est le cas des anions tels que le nitrate, l'iodure, le bromure ainsi que du zinc chez le diaphragme à 37°C, de tous les ions étudiés chez le lombrical à 37°C, et à 20°C pour les deux muscles. En pointillé, nous avons indiqué la possibilité d'un

accroissement du degré d'activation, tel qu'il semble ressortir de nos expériences d'étirement rapide (VI-3) en présence de nitrate ou de zinc chez le diaphragme à 37°C. Ce type de renforcement de la secousse est lié à un abaissement du seuil mécanique de dépolarisation et à des modifications de la dépolarisation de la membrane, ralentissement du potentiel de pointe (dans le cas des cations divalents) et apparition d'une post-dépolarisation lente, pour les deux types d'ions mais plus marquée chez les cations.

En c, est figurée l'action particulière de l'uranyle chez le diaphragme à 37°C. Nous voyons que seule l'intensité du degré d'activation est modifiée, le décours temporel pouvant d'ailleurs selon les cas, être ou non accéléré ; en tous cas nous n'avons jamais observé d'allongement. Ce fait signifie qu'une plus grande quantité d'ions Ca^{++} est disponible pour activer l'élément contractile. Cette quantité plus importante d'activateur est, soit due à la libération par l'excitation d'une plus grande quantité d'ions Ca^{++} par le réticulum, soit à une vitesse accélérée de cette libération. Il ne nous est pas permis de trancher entre ces deux hypothèses, bien que nous ayons montré que la vitesse de relaxation était souvent accélérée, recouvrant ainsi une accélération des échanges énergétiques (VII-4).

Cette étude des propriétés dynamiques du muscle de Mammifère, nous permet une meilleure compréhension des phénomènes élémentaires de la contraction, en particulier, du rôle pilote joué par le calcium dans la formation du moteur élémentaire que constitue la liaison actomyosique. Compte tenu des idées modernes développées par A. F. HUXLEY et son école, l'étude de l'influence de la température et des agents chimiques selon la méthodologie que nous avons développée chez le Mammifère ouvre des perspectives intéressantes pour une meilleure connaissance de la structure et du fonctionnement élémentaire du muscle, le but à atteindre étant l'application à la pathologie humaine.

———— 0 ————

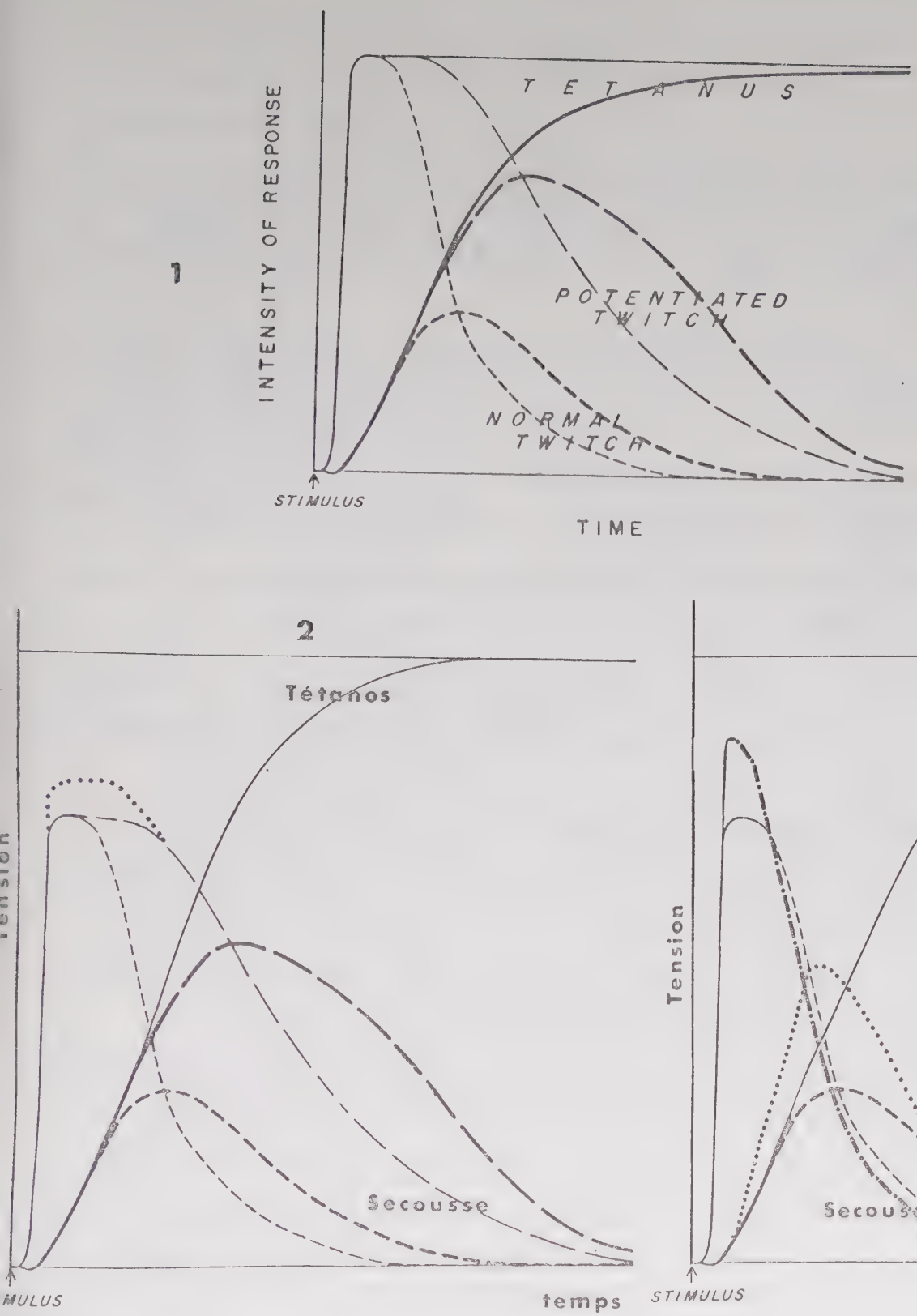


Figure 81 - Schéma illustrant les rapports existant entre la réponse mécanique et le degré d'activation lors d'une secousse normale (– –) et d'une secousse renforcée (—— et ...). En 1 - chez la Grenouille (SANDOW, 1964) En 2 et 3-chez le Rat (G. REISS). En 3-renforcement de la secousse en présence d'uranyle chez le diaphragme à 37°C, lié à un degré d'activation mécanique accru (voir texte).

RESUME

Le but du présent travail a été l'étude des propriétés mécaniques du muscle de Mammifère (Rat) à 37°C, en particulier des modifications apportées au couplage entre l'excitation et la contraction par l'adjonction d'agents renforçateurs de la secousse chez la grenouille (SANDOW et coll.).

A partir des nombreuses expériences faites (350 environ) on a pu faire apparaître une différence de comportement entre le muscle de Mammifère et le muscle de Grenouille, tout particulièrement dans le cas de l'action de l'uranyle sur le diaphragme. Pour expliquer nos résultats, nous avons été conduite à proposer une modification du schéma mécanique classique (HILL) de la secousse en très bon accord avec les conceptions nouvelles concernant la structure et la dynamique élémentaire du muscle (A. F. HUXLEY).

Nous avons étudié l'action des agents potentiateurs suivants :

- anions de la série lyotropique : nitrate, bromure, iodure, perchlorate, thiocyanate,

- cations divalents : zinc, cadmium, uranyle et nickel,

sur les muscles diaphragme et lombrical de Rat à 37°C, à l'aide des techniques suivantes :

-enregistrement des potentiels de membrane de la fibre musculaire à l'aide de microélectrodes intra-cellulaires ,

-enregistrement des contractures provoquées par la dépolarisation membranaire en augmentant la concentration en ions K^+ du milieu ,

-enregistrement de la secousse isométrique et du tétanos isométrique,

-enregistrement de la tension provoquée par des étirements brefs pendant une secousse et un tétanos isométrique (méthode du quick-stretch), à l'aide de l'appareillage spécialisé du Professeur G. MARECHAL (Université de Louvain, Belgique).

Rappelons qu'il s'agit d'éliminer l'inertie des éléments élastiques en série de manière à recueillir la force maximum produite par l'élément contractile. L'étirement est appliqué soit pendant la phase de la montée en tension de la secousse, soit pendant le plateau du tétanos isométrique.

Les phénomènes principaux suivants ont été mis en évidence :

1- Renforcement de la secousse semblable à celui observé chez la Grenouille, selon l'ion utilisé et en fonction de la concentration de l'agent renforçateur.

2 - Comportement caractéristique des muscles diaphragme et lombrical de Rat en présence de cadmium et d'uranyle : si le lombrical se comporte comme le muscle de Grenouille, le diaphragme s'en différencie totalement.

3- Mise en évidence du maintien de la contraction dans les milieux hypocalciques en présence d'uranyle.

4- Mise en évidence d'un effet dépresseur de l'ion zinc sur la réponse mécanique du diaphragme, associé au phénomène de renforcement.

5- Rôle important des phénomènes de diffusion inter-cellulaires limitant la réponse mécanique du muscle à des concentrations croissantes en K^+.

En ce qui concerne particulièrement le point 2, dans toutes nos mesures, un comportement original du diaphragme s'est révélé en présence d'uranyle : une augmentation de tension de la secousse liée à une diminution de la durée de la phase ascendante de la secousse. Pour expliquer ce fait, la théorie classique rendant compte du renforcement par allongement de la durée de l'état actif (HILL-SANDOW) n'était plus suffisante. Nous avons donc formulé l'hypothèse suivante :

"Lors d'une secousse maximale succédant à un stimulus unique, le degré d'activation (qui peut être considéré comme une mesure de la quantité d'ions calcium libéré par le réticulum endoplasmique) n'est pas maxima à 37°C, et peut être modulé par divers agents".

Pour étayer cette hypothèse nous avons appliqué des étirements brefs pendant la montée en tension de la secousse. A l'encontre de ce que HILL a observé chez la grenouille à 0°C, et nous-même, chez le diaphragme à 20°C, la tension de la secousse sous étirement n'atteint jamais la tension tétanique.

L'adjonction d'agents renforçateurs permet d'accroître la tension recueillie sans atteindre cependant la tension tétanique. Pendant le plateau de tension tétanique, on recueille pendant l'étirement une tension identique en présence ou non d'agents renforçateurs.

Après avoir étudié l'action des agents renforçateurs sur la montée en tension de la secousse, nous avons recherché leur influence sur la phase de relaxation considérée classiquement comme un phénomène passif. Un examen des 200 enregistrements étudiés, ainsi que de ceux tirés de la littérature (CLOSE, SANDOW et coll., CAPUTO, GILLIS ...) révèle un décours exponentiel, au moins pendant la seconde partie de la relaxation, ce qui se traduit graphiquement par une droite en coordonnées semi-logarithmiques, caractérisée par la pente m, sensible aux conditions physico-chimiques suivantes : abaissement de la température, abaissement du taux de Ca^{++} du milieu, agents renforçateurs, ce qui ne plaide guère en faveur de la relaxation d'un système passif du type VOIGT ou MAXWELL. Par contre, avec D.K. HILL (1972) et PODOLSKY et TEICHOLZ (1970), on peut considérer que la pente m est la constante de vitesse du taux de repompage du Ca^{++} ionisé par le réticulum sarcoplasmique.

En conclusion, le comportement du muscle de Mammifère est résumé dans un schéma indiquant la relation entre la réponse mécanique et le degré d'activation en présence des divers agents renforçateurs étudiés.

———— 0 ————

ANNEXES

DE LA THESE

ANNEXE N° I

ELEMENTS DE VISCO ELASTICITE

Certains fluides ont un comportement rhéologique analogue à un système qui serait constitué par une combinaison de ressorts et d'amortisseurs, les ressorts étant supposés être du type hookien ou élastique et les amortisseurs du type visqueux, d'où l'adjectif visco-élastique.

Le mouvement d'un ressort hookien est décrit par l'équation :

$$P = Kx \qquad (2)$$

P étant la tension, x l'extension relative et K le module de rigidité (module d'Young).

Le mouvement d'un amortisseur visqueux est décrit par l'équation :

$$P = \mu \dot{x} \qquad (3)$$

$\dot{x}$ étant la dérivée première par rapport au temps de x, μ une viscosité.

Les éléments de base dans toute représentation mécanique d'un système visco-élastique sont :

-une combinaison en parallèle d'un ressort et d'un amortisseur, connue sous le nom d'élément de VOIGT,

-une combinaison en série d'un ressort et d'un amortisseur, connue sous le nom d'élément de MAXWELL.

Les fluides visco-élastiques peuvent être considérés comme une combinaison plus ou moins compliquée de ces éléments de base.

L'élément de VOIGT.

Considérons le système représenté sur la figure 81a, l'équation du mouvement est :

$$P = Kx + \mu \dot{x} \qquad (4)$$

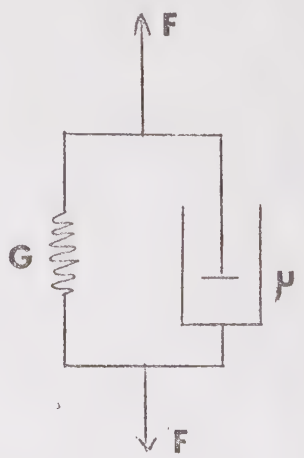
L'intégration de l'équation (3) donne, en général:

$$x = e^{-\frac{K}{\mu}t} \left[x_i + \frac{1}{\mu} \int P e^{\frac{K}{\mu}t} dt \right] \qquad (5)$$

x_i est l'extension à t = 0

Si la tension est maintenue constante et si l'extension initiale est nulle, on a la solution simplifiée :

$$x(t) = \frac{Pi}{K} \left[1 - e^{-\frac{t}{\lambda v}} \right] \qquad (6)$$



avec $\lambda v = \frac{\mu}{K}$ λv qui est homogène à un temps est souvent appelé temps de retard. Si la tension est supprimée, l'extension disparaît.

L'élément de MAXWELL.

C'est un ressort relié en série à un amortisseur. Se référant à la figure 81b et aux équations (2) et (3) on obtient après intégration :

$$P = e^{-\frac{K}{\mu}t}\left[P_i + K\int x\, e^{-\frac{K}{\mu}t}\, dt\right] \qquad (7)$$

P_i est la tension initiale

Si un élément de MAXWELL est soumis à $t = 0$ à une extension constante x_i, la tension va évoluer comme :

$$P_{(t)} = x_i\, K\, e^{-\frac{t}{\lambda M}} \qquad (8)$$

avec $\lambda_M = \frac{\mu}{K}$, homogène à un temps, qui est appelé le temps de relaxation.

On constatera que l'élément de VOIGT, fonctionnant dans des conditions isotoniques, et l'élément de MAXWELL, fonctionnant des des conditions isométriques, ont un comportement purement exponentiel avec une "constante de vitesse" ou pente de coordonnées semi-logarithmiques, égale à $\frac{K}{\mu}$, rapport du module de rigidité à la viscosité (soit l'inverse du temps de retard ou du temps de relaxation).

N. B. Une discussion sur le bien fondé de la représentation visco-élastique en matière de comportement dynamique de muscle est incluse dans le corps de cette thèse au chapitre IV-7.5.

ANNEXE N° II

DEVELOPPEMENTS MATHEMATIQUES

(HUXLEY et SIMMONS, 1971)

Nous allons établir les équations rendant compte de l'amplitude et du décours de la brève reprise de tension dans le cas d'un système à deux positions stables de la tête de myosine relativement au filament d'actine (voir figure 26).

Les hypothèses simplificatives suivantes sont faites :

1- les enclanchements et décrochements réels du pont considéré dans son ensemble, sont suffisamment lents pour être négligés devant le phénomène étudié.

2- les filaments eux-mêmes sont complètement rigides.

3- les filaments ne subissent aucun mouvement glissant sauf quand la longueur totale de la fibre est modifiée.

4- l'élasticité de la liaison AB obéit à la loi de HOOK.

5- la liaison AB peut exercer des tensions négatives aussi bien que positives.

6- dans l'état stationnaire isométrique, chaque pont accroché reste sur chacune des deux positions disponibles approximativement le même temps (ceci ne peut pas être strictement vrai dans le muscle réel parce que les espacements le long du filament épais et du filament mince ne sont pas dans un rapport simple, de sorte que les positions relatives des molécules d'actine et de myosine peuvent varier d'un pont à l'autre (1) (H. E. HUXLEY, 1969).

7- le temps du transfert de l'une à l'autre position est négligeable.

Nous utiliserons les notations suivantes :

n_1 : proportion des ponts accrochés en position 1.

$n_2 = 1 - n_1$: proportion des ponts accrochés en position 2 .

y : déplacement du filament épais relativement au filament fin quand la fibre est étirée ou raccourcie (zéro dans l'état isométrique, avant d'appliquer le changement de longueur).

y_o : longueur de la liaison élastique AB quand le pont est à mi-chemin entre les positions 1 et 2 (égale au déplacement par mouvement glissant brusque nécessaire pour amener la tension à zéro à partir de l'état isométrique).

h : augmentation de la longueur AB quand le pont passe de la position 1 à la position 2.

K : raideur de la liaison AB (supposée obéir à la loi de HOOK).

F_1 : tension dans AB quand le pont est en position 1.

F_2 : tension dans AB quand le pont est en position 2.

φ : moyenne dans le temps de F_1 et F_2.

k : constante de Boltzman.

A partir de ces définitions on a :

$$F_1 = K\left(y + y_o - \frac{h}{2} \right)$$
$$F_2 = K\left(y + y_o + \frac{h}{2} \right) \qquad (9)$$

et la moyenne dans le temps de la tension est :

$$\varphi = n_1 F_1 + n_2 F_2$$

$$\varphi = K\left(y + y_o - \frac{h}{2} + h\, n_2 \right) \quad \text{car } n_2 = 1 - n_1 \qquad (10)$$

Dans l'état isométrique $y = 0$: $n_2 = n_1 = \frac{1}{2}$

et cette équation se réduit à :

$$\varphi = K\, y_o \qquad (11)$$

les constantes de vitesse $k+$ pour le transfert de la position 1 à la position 2.

et $k-$ pour le transfert de 2 à 1

sont gouvernées par les barrières d'énergie

$B_2 = (E_2 + W)$ et $B_1 = E_1$ respectivement (voir planche et annexe n° III et figure n° 83.

W est le travail fait en étirant AB quand le pont passe de la position 1 à la position 2 et est égal à :

$$W = h\, \frac{F_1 + F_2}{2}$$

$$W = K\, h\, (y + y_o) \qquad (12)$$

d'après l'équation (9)

Supposons les $k\pm$ proportionnels à $e^{-\frac{B}{kT}}$. Nous avons, dans ce cas :

$$k+ = \text{Cste} \times e^{-\frac{B_2}{kT}} \quad \text{et} \quad k- = \text{Cste} \times e^{-\frac{B_1}{kT}}$$

$$\text{D'où } \frac{k+}{k-} = e^{-\frac{B_1 - B_2}{kT}}$$

et $k+ = k- \; e^{\frac{B_1 - B_2}{kT}}$ $\qquad$ $k+ = k- \; e^{\frac{E_1 - E_2 - W}{kT}}$

en remplaçant $B_1 - B_2$ par leur valeur :

$$k+ = k- \; e^{\frac{E_1 - E_2 - Kh\,(y + y_o)}{k\,T}} \qquad (13)$$

ou k- est constante du fait que B_1 est une quantité fixée indépendante de la tension dans AB

$$k- = \text{Cste} \times e^{-\frac{E_1}{kT}}$$

Dans l'état isométrique, nous avons supposé $n_1 = n_2$ de sorte que $k+ = k-$, de même $y = 0$ car y est défini comme le changement de longueur à partir de l'état isométrique.

Il découle alors de l'équation (13) que :

$$E_1 - E_2 = K\,h\,y_o \qquad (14)$$

$E_1 - E_2$ est le travail élastique de AB dans les conditions isométriques. L'équation (13) devient :

$$k+ = k- \; e^{-\frac{yKh}{kT}} \qquad (15)$$

Dans les expériences décrites ici, y est soudainement modifié en imposant un changement de longueur à la fibre musculaire puis est par la suite maintenu constant. Le transfert des têtes de myosine d'une position à l'autre est alors gouverné par l'équation :

$$\frac{d\,n_2}{d\,t} = (k_+ n_1) - (k_- n_2)$$

$$\frac{d\,n_2}{d\,t} = k+ - (k+ + k-)\,n_2 \qquad (16)$$

C'est l'équation d'une exponentielle qui a pour constante de temps

$$r = k_+ + k_- \qquad (17)$$

et dont la solution n_2 tend, pour les grandes valeurs de t, vers $n_{2\,\infty}$

$$n_{2\,\infty} = \frac{k+}{k_+ + k_-} \qquad (18)$$

En portant (15) dans (17) nous avons :

$$r = k - (1 + e^{-\frac{yKh}{kT}}) \qquad (19)$$

Cette expression est de la même forme que l'équation (1)

$$r = \frac{r_o}{2}\,(1 + e^{-\alpha y})$$

et les équation deviennent identiques, donnant un accord approximatif avec les résultats expérimentaux de la figure 25, si nous prenons :

$$Kh = \alpha k T \qquad (20)$$

on peut donc écrire l'équation (15) sous la forme suivante :

$$k_+ = k \quad e^{-\alpha y} \qquad (21)$$

et l'équation (18) devient :

$$n_{2\infty} = \frac{1}{2} \left(1 + \text{tang h} \frac{\alpha y}{2} \right) \qquad (22)$$

La tension $\varphi_{2\infty}$ à la fin de la brève reprise de tension (correspondant à T_2 dans la fibre entière) est obtenue en combinant (10), (20) et (22) :

$$\varphi_{2\infty} = \frac{\alpha k T}{h} \left(y_o + y - \frac{h}{2} \text{tang h} \frac{\alpha y}{2} \right) \qquad (23)$$

On peut également obtenir le travail effectué pendant le raccourcissement, à une vitesse suffisamment lente pour que n_2 garde toujours sa valeur d'équilibre en intégrant (23) :

$$\int \varphi_{2\infty} \, dy = k T \left[\frac{\alpha y}{h} \left(y_o + \frac{y}{2} \right) - \ln \cos h \frac{\alpha y}{2} \right] \qquad (24)$$

Revenons à l'expression (23). Sa représentation graphique en fonction de y doit avoir la même allure que la tension T_2 expérimentalement mesurée pour la fibre entière (figure 24a). Pour obtenir ce résultat (figure 24b) on a joué sur le paramètre h. En effet, pour $h > \frac{4}{\alpha}$, la courbe n'est pas assez infléchie et elle possède une partie à pente négative pour $h < \frac{4}{\alpha}$. On a donc adopté la valeur $h = \frac{4}{\alpha}$. En outre α est connu, il est égal à $5.10^8 \ m^{-1}$, à partir des données expérimentales (figure 25) et y_o est donné par l'intersection de la courbe en pointillé de la planche 24a et de l'axe des abscisses. y_o est voisin de 8 nm (c'est la longueur de AB correspondant à la tension nulle).

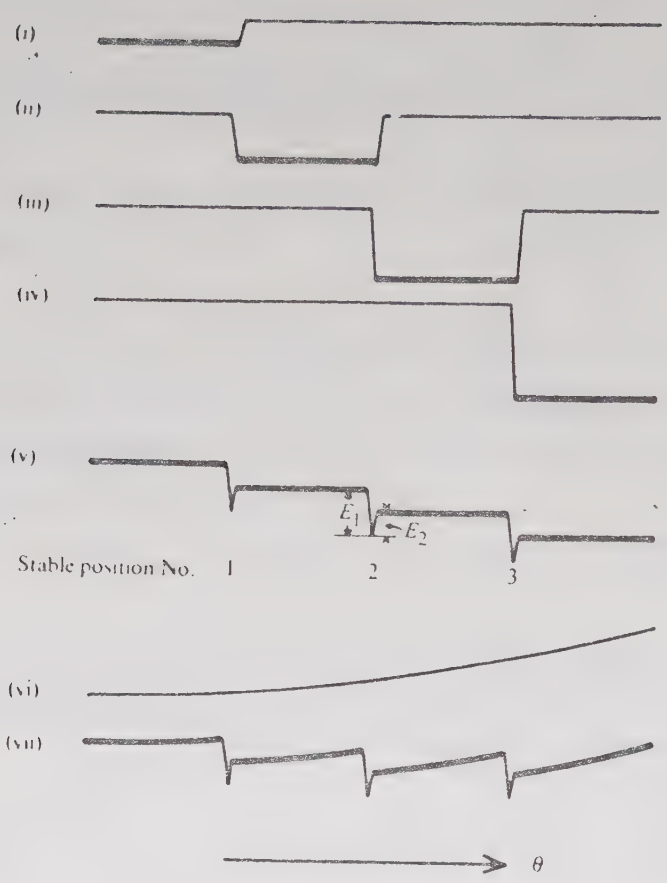


Figure 83a - HUXLEY et SIMMONS (1971)

Diagrammes d'énergie potentielle relatifs à un système à 3 positions d'équilibre stables.

-les diagrammes 1 à 4 représentent l'énergie d'activation de chacun des "attachements" M_1A_1, M_2A_2, M_3A_3, M_4A_4, en fonction de θ. Dans chaque diagramme la ligne épaisse correspond à la gamme de θ à l'intérieur de laquelle les sites M et A homologues sont attachés.

-le diagramme 5 qui est la somme des diagrammes 1 à 4 représente l'énergie potentielle d'activation du système.

-le diagramme 6 donne l'énergie potentielle due à l'allongement de la liaison élastique AB.

-le diagramme 7 donne l'énergie potentielle totale.

ANNEXE N°III

ENERGIE POTENTIELLE D'UN PONT ATTACHE

(HUXLEY et SIMMONS, 1971)

Les courbes I à IV de la figure 83a montrent les diagrammes d'énergie potentielle en fonction de l'angle θ pour chacun des sites d'engrenage (M_1 A_1, M_2 A_2 et ainsi de suite) pour un pont.

Chaque diagramme comporte un puits à fond plat qui s'étend vers les valeurs de θ qui correspondent aux positions de la tête de myosine pour lesquelles les sites peuvent s'engrener.

La courbe V est la somme des courbes I à IV et donne donc l'énergie potentielle d'activation totale du pont (en l'absence de la force élastique dans la liaison AB) ; elle consiste en une série de paliers séparés par de brefs creux aux positions où deux dents sont engrenées simultanément. La profondeur de chaque creux dépendra de la forme et de la position exacte des bords des puits de potentiel : on a supposé dans le cas particulier de la figure 82b que les quantités E_1 et E_2 (voir tracé IV) sont les mêmes pour chaque creux.

L'énergie potentielle totale d'un pont attaché contient aussi l'énergie potentielle élastique de la liaison AB. Ce dernier terme apparaît dans la figure 82a VI et l'énergie potentielle totale dans la courbe 82a VII.

Si on se réfère à la figure 82b qui donne le diagramme de l'énergie potentielle dans le cas d'un "système à 3 dents" (2 positions stables), on voit apparaître les grandeurs B_1, B_2, E_1, E_2. B_2 est le surcroît d'énergie potentielle que le système doit trouver pour pouvoir passer de la position 1 à la position 2. B_2 comprend un terme d'activation E_2 et un terme mécanique W.

E_2 est le surcroît d'énergie potentielle d'activation que le système doit trouver pour passer de la position 1 à la position 2.

W est le travail mécanique effectué par le ressort AB au cours du transfert de 1 vers 2.

B_1 est le surcroît d'énergie potentielle que le système doit trouver pour passer de la position 2 à la position 1.

E_1 est le surcroît d'énergie potentielle d'activation que le sys-

tème doit trouver pour pouvoir passer de 2 en 1.

On remarquera que si $B_2 = E_2 + W$ $\quad 1 \longrightarrow 2$

$B_1 = E_1$ $\quad 2 \longrightarrow 1$

Dans un sens (1vers 2) le seuil d'énergie que le système doit franchir dépend du travail mécanique, tandis que dans l'autre sens (2 vers 1) il n'en dépend pas. Cette asymétrie justifie la théorie suivant laquelle la constante de vitesse de la brève reprise de tension dépend non seulement de la grandeur du pas de variation de longueur y, mais encore de son sens.

Autre grandeur qui mérite une définition, $E_1 - E_2$, qui apparaît dans l'expression mathématique du phénomène (annexe II). $E_1 - E_2$ est la différence entre les seuils d'énergie potentielle d'activation (énergie mécanique non comprise) déjà définis.

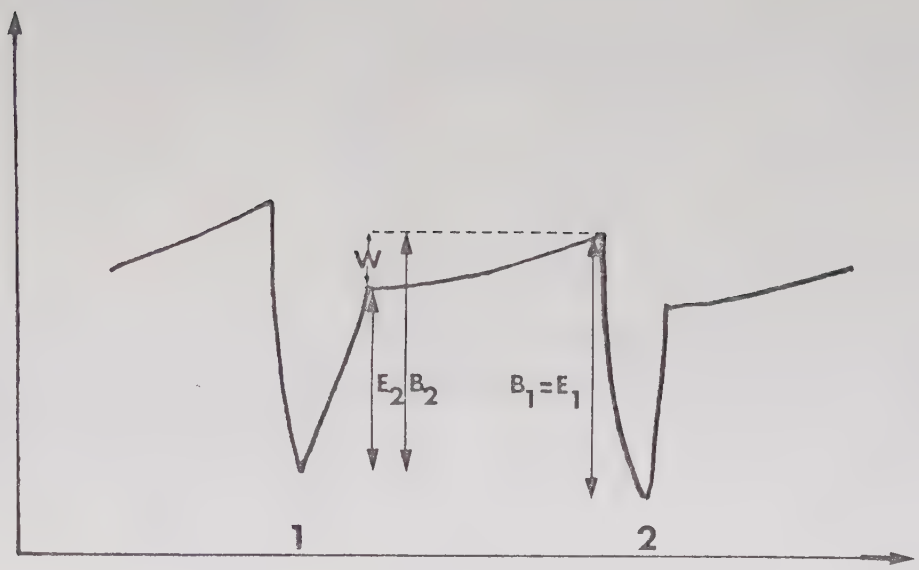


Figure 83b - HUXLEY et SIMMONS, 1971.

Diagramme de l'énergie potentielle en considérant un système à deux positions d'équilibre stables (1 et 2).

ANNEXE N° IV

DEFINITION GRAPHIQUE DE r
(HUXLEY et SIMMONS, 1971)

Considérons une exponentielle

$$T = I + J\ e^{-rt} \qquad (25)$$

qui passe par les points suivants :(voir figure 23b)

$t = 0$	$T = T_1$	(β)
$t \to \infty$	$T \to T_2$	(δ)
$t = t_{1,3}$	$T = \frac{2T_2 + T_1}{3}$	(γ)

L'exponentielle est définie par I, J, r. Ces trois paramètres sont connus puisque, connaissant trois points de l'exponentielle on peut écrire l'équation (25) avec les valeurs numériques correspondant à chacun des points : on a 3 équations, 3 inconnues (A, B, r). On peut trouver les solutions et donc donner l'expression de A, B , r.

Résolvons donc le système :

$t = 0$	$T_1 = I + J$ (car $e^\circ = 1$)
$t \to \infty$	$T \to I$
	$T_2 = I$

l'équation (25) devient avec $T_2 = I$

$$T_1 = T_2 + J \quad \text{ou} \quad J = T_1 - T_2$$

$$T = T_2 + (T_1 - T_2)\ e^{-rt}$$

$$\frac{T - T_2}{T_1 - T_2} = e^{-rt} \qquad (26)$$

Portons dans l''équation (26) les valeurs de $T = \frac{2T_2 + T_1}{3}$

$t = t_{1,3}$

$$\frac{2T_2 + T_1 - 3T_2}{3(T_1 - T_2)} = e^{-r\,t_{1,3}}$$

$$\frac{T_1 - T_2}{3(T_1 - T_2)} = e^{-r\,t_{1,3}} = \frac{1}{3}$$

$$3 = e^{+r\,t_{1,3}}$$

$$\ln 3 = r\,t_{1,3}$$

$$r = \frac{\ln 3}{t_{1,3}}$$

Pour calculer r, on repère sur la brève reprise de tension le temps t_{13} au bout duquel la tension atteint la valeur $T = \frac{2T2 + T1}{3}$ et l'on forme l'expression qui vient d'être établie.

LISTE DES TABLEAUX.

Tableau I. Action du nitrate.

Tableau II. Action de l'iodure.

Tableau III. Action du bromure.

Tableau IV. Action du thiocyanate.

Tableau V. Action du perchlorate.

Tableau VI. Action de l'application successive de plusieurs anions.

Tableau VII. Action du zinc chez le diaphragme.

Tableau VIII. Action du zinc chez le lombrical.

Tableau IX. Action du cadmium.

Tableau X. Action du nickel.

Tableau XI. Action de l'uranyle chez le diaphragme et le lombrical à 37°C.

Tableau XII. Action de l'uranyle en milieu hypocalcique.

Tableau XIII. Action de la diminution de la teneur en calcium du milieu chez divers types de muscle.

Tableau XIV. Action de l'uranyle chez la grenouille en milieu tamponné par du bicarbonate et par du TRIS.

Tableau XV. voir page 130.

Tableau XVI. voir page 131.

Tableau XVII. voir page 111.

Tableau XVIII. Action de diverses concentrations d'uranyle sur le taux de renforcement de la secousse .

Tableau XIX. Action de diverses concentrations de zinc, de cadmium, de nickel sur le taux de renforcement de la secousse chez le diaphragme.

Définitions des symboles utilisés dans les tableaux I à XIV

Δ : lambeau de diaphragme de Rat.

L : lombrical de Rat.

C. Gr. : couturier de Grenouille.

S. Gr. : sartorius de Grenouille.

E. L. D. IV Gr. : extensor longus digiti IV de la grenouille.

C : concentration en ion utilisé.

K. B. : milieu physiologique de KREBS tamponné avec du bicarbonate, B. (milieu normal utilisé).

K. T. : milieu physiologique de KREBS tamponné avec du Tris, T.

P : tension de la secousse exprimée en mg

$d_{\varphi}C$: durée de la phase ascendante de la secousse, en unités arbitraires.

Dt : durée totale de la secousse, en unités arbitraires.

m : constante de vitesse de la relaxation de la secousse dans sa deuxième partie (chute au-dessous de 50% de la tension) en unités arbitraires (échelle $\log_{10}$ et unité arbitraire de temps). On obtient m en sec^{-1} en multipliant les valeurs de m qui figurent dans les tableaux par le facteur 0, 805, (échelle $\log_e$ pour les tensions et secondes pour les temps).

t_{50} : durée de la phase de relaxation pour la chute de tension à 1/2, établie à partir de la représentation graphique décrite figure 33.

P_D et t_D : tension et temps pour lesquels cessent le comportement de type exponentiel.

20 ms correspondent à 7 unités arbitraires de temps.
(Se reporter à la figure 33, chapitre III).

TABLEAU I

Date	N°	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	dφC		$\frac{\Delta d\varphi C}{d\varphi C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
3-3-67	5-7	Δ	1658,5	1926	+16	12,5	13,7	+10	130	137,8	5,8
6-3-67	3-4	Δ	2033	2961	+21	10	12,5	+25	125	135	8
	9-12	Δ	1926	2300	+19,5	10	13,7	+37	120	127,5	6,2
2-3-67	9-10	Δ	1070	1220,5	+15	10	12,5	+25	125	125	0
7-1-67	4-5	Δ	685,5	872,7	+27	13	14	+ 7,7	-	-	-
-3-67	9-10	Δ	1738,75	2059,7	+18,5	13,7	17,5	+20	145	145	0
7-3-67	3-5	Δ	1605	2309,5	+43	10	15	+50	125	150	20
0-3-67	3-4	Δ	1219,8	1476,6	+20	7,5	7,5	0	117,5	117,5	0
7-2-67	7-8	Δ	1070	1391	+30	13	15	+15,5	-	-	-
	10-11	Δ	1070	1284	+20	13	15	+15,5	-	-	-
6-4-67	3-4	Δ	2782	3852	+38,5	7,5	7,5	0	-	-	-
4-4-72	6-8	L	307,8	342	+11	6	7	+16,5	52	60	15,5
5-4-72	5-8	L	199,5	256,5	+28,5	5,5	6	+ 9,2	35		-

TABLEAU I (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
26,6	27,6	+3,75	18,7	22	17,5	0,15	<0,2	>33	37,5	>48,6	>+26
21,2	20	-5,7	20	21,5	7,5	<0,1	<0,1	-	>52	>56	-
22,6	18,5	-16	10	14	+40	<0,1	<0,1	-	>50	>62	-
37	37	0	11,2	11,2	0	<0,1	<0,1	-	>29	>29	-
48,5	38,5	-20,6	10	15,5	+55	<0,1	<0,1	-	>24	>33	-
20	20	0	23,7	28,7	+21	<0,1	<0,1	-	>60	>65	-
43,5	33,5	-28	13,5	20,5	+52	0,3	0,3	0	19	27	+42
43,5	52,5	+20,6	10	8	-20	<0,1	<0,1	-	>26	>21	-
38,5	38,5	0	17	15	11,8	<0,1	<0,1	-	>33	>36	-
37	38,5	+4	15	17	13,3	<0,1	<0,1	-	>34	>35	-
29,4	29,4	0	11	11	0	<0,1	<0,1	-	>35	>35	-
57	49	-14	7	8	+14,2	0,14	0,22	+57	13	19	+46
59	54	-8,5	7,8	7,2	- 7,7	0,14	0,27	+93	17	12	-29,5

TABLEAU II

Date	C%	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	$d_{\varphi}C$		$\frac{\Delta d_{\varphi}C}{d_{\varphi}C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
6-3-67	25	Δ	1930	2446	+27,8	10	11,25	+12,5	120	125	4, 15
	25	Δ	1552	1338	-13,8	17,5	12,5	-28,6	125	125	0
5-3-67	25	Δ	1716	1446	-15,6	17,5	15	-14,3	130	130	0
6-4-67	25	Δ	1770	2300	+28,3	7,5	12,5	+66,6	120	137,5	11,2
0-12-70	10	L	120	137	+14,1	6,5	7	+ 7,7	-	-	-
	20	L	85	162	+91	6	6,5	+ 8,3	-	-	-
1-12-70			162	240	+48	6	7	+16,6	-	-	-
-12-70	15	L	90	120	+33,3	6	7	+16,6	-	-	-
6-12-70	10	L	69	82	+18,8	6	6	0	-	-	-
2-12-70	15	L	90	114	+26,6	5	6	+20	-	-	-
7-3-72	25	L	237	332	+40	8	11	+37,5	57	-	-
0-4-72	15	L	407	492	+20,8	6	6,5	+8,3	50	54	8
-4-72	15	L	320	432	+34,7	9	10	+11,3	-	-	-
-3-67		Δ	1070	1070	0	7, 5	7,5	0	125	125	0
ylor eiser ndow 65	50	S. Gr			+118			+62,5			+26

TABLEAU II (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
21,2	21,2	0	20	20	0	<0,1	<0,1	-	>52	>52	-
25	35,6	+42,5	23,5	15,5	34	<0,1	<0,1	-	>51	>35	-
25	28,6	+14,4	23,5	16,5	30	<0,1	<0,1	-	>51	>41	-
28,5	19	-33,5	15,4	21,2	+37,6	<0,1	<0,1		>38	>55	
30	24,4	-18,7	9,5	10	5,2	0,30	0,35	16,6	17	17	0
26,2	15,9	-24	11	8	+27,2	0, 45	0, 45	0	14	13	7, 15
26,2	15,9	-39,5	8	8	0	0,45	0,45	0	11	13	18,2
37	28,5	-16	8	8	0	0, 32	0,33	3,1	13,4	15,8	18
22,6	17,1	-24	12	11	8,3	0,1	0,30	+200	50	21	+58
46	40,4	-12,2	9	9	0	0,38	0,38	0	11,5	12,5	8,7
59	42,5	-28	9,2	12,5	+36	0,35	0,35	0	11,5	16	+51,5
62,5	62,5	0	5,5	6	9	0,25	0,27	8	10,6	10,4	1,9
26,4	29	+9,9	12,5	11,5	8	0,22	0,28	+27,2	26	20,5	-21
43	43	0	13,4	13,4	0	<0,1	<0,1	-	>29	>29	-
58	59	1, 7	11,2	17,8	+59	0,1	0,1	0	>23,3	>29,6	-

TABLEAU III

Date	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	$d_\varphi C$		$\frac{\Delta d_\varphi C}{d_\varphi C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
3-3-67	Δ	1444,5	2140	+32,5	12,5	12,5	0	130	135	+3,9
13-3-67	Δ	750	1028	+37	10	20	+100	117	145	+24
		707	1050	+48,5	10	15	+50	117	135	+15
15-3-67	Δ	1553,5	1818	+16,8	16,2	10	-38,2	130	112,5	-13,5
22-3-67	Δ	1178,5	1607,5	+45	10	10	0	120	125	+4, 1
23-1-67	Δ	1436	2060	+43,5	11	12	+9	-	-	-
25-1-67	Δ	2872	3737	+23,1	15	16	+6, 7	-	-	-
10-4-67	Δ	1987,5	2362,5	+18,8	7,5	7,5	0	125	125	0
3-11-71	L	238	452	+52	6, 5	8	+23	60	60	0
3-2-72	L	539	659	+21, 9	8	10,5	+31,2	60	62	3,5
4-2-72	L	420	932	+122	6	8	+33,3	50	68	+36
-6-72	L	277	325	+17,3	5	5,5	10	-	-	-

TABLEAU III (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$%	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$%	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$%	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$%
25	25	0	20	20	0	<0,1	<0,1	0	>48	>48	-
37	23,8	-35,6	13	26,5	+104	<0,1	<0,1	-	>31	>56	-
37	26,4	-28,7	13	19	+46	<0,1	<0,1	-	>31	>45	-
27	45,5	+69	21	13,5	-35,6	<0,1	<0,1	-	>47	>29	-
37	37	0	11,2	11,2	0	<0,1	<0,1	-	>29	>29	-
51	37,6	-26,4	8,5	13	+53	<0,1	<0,1	-	>22	>32	-
25	25	0	18	20	11	0,18	<0,1	<44,5	35	>48	>37
41,6	44,5	+7	9,5	10	+5,2	<0,1	<0,1		>26	>26	-
59	59	0	8,5	9,5	+11,8	0,17	0,15	11,8	17	19	11,8
62,5	62,5	0	6,5	8,5	+27,3	0,17	0,35	+106	14	11	-21,4
74	55,5	-25	4,5	6,5	+44,5	0,16	0,25	+56	11	12	9
51	60	+17,7	8,5	7,5	-11,8	0,1	0,18	+80	22	15	-31,8

TABLEAU IV

Date	C%	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	$d_\varphi C$		$\frac{\Delta d_\varphi C}{d_\varphi C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
7-3-67	2	Δ	1449	1610	+11,1	10	10	0	112,5	112,5	0
8-3-67	2	Δ	1770	1931	+ 9,1	12,5	12,5	0	137,5	137,5	0
			1875	2036	+ 8,5	12,5	15	+20	137,5	140	1,8
13-3-67	2	Δ	772	900	+16,6	13,7	13,7	0	130	130	0
23-3-67	2	Δ	2039	2200	+ 7,9	7,5	7,5	0	112,5	112,5	0
Benoit Ct zens- erger antinelli	10	$\frac{1}{2}$ TGr			+46,5			+40			+24

TABLEAU IV (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
26,6	29	+9	13,5	13,5	0	<0,1	<0,1	-	>40	>38	-
22,2	22,2	0	17	17	0	0,2	0,16	-20	34	37	-
21,7	21,7	0	20	20	0	0,18	0,18	0	41	41	0
37	32,4	-11	13	16,5	+27	<0,1	<0,1	-	>31	>37	-
44,5	46,5	+5,1	10	9	10	<0,1	<0,1	-	>25	>25	-
56	50,5	9,8	12,8	20,4	+59,5	<0,1	<0,1	-	>25	>34	-

TABLEAU V

Date	C%	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$%	dφC		$\frac{\Delta d\varphi C}{d\varphi C}$%	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$%
7-3-67		Δ	1448	2468	+76	7,5	11,2	+50	100	>120	>20
3-3-67		Δ	1715	2461	+43,8	11,2	12,5	+16,5	132	142	7,6
24-3-67		Δ	1715	1930	+12,5	7,5	7,5	0	120	120	0
3-2-71		L	386	515	+22,1	7,5	9	+20	-	-	-
9-2-71	2,5	L	678,5	750	+10,5	6	7,5	+25	-	-	-
8-2-71		L	314	715	+127	6,5	9	+38,5	-	-	-

TABLEAU V (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
40	33	-17,5	10	12,5	25	<0,1	<0,1	-	>28	>34	-
22,2	41,6	+88	17	10	-41,2	0,16	0,20	+25	37	20	46
32,2	32,2	0	12,5	12,5	0	<0,1	<0,1	-	>34	>34	-
54	64,5	+19,5	7,5	8,5	13,3	0,14	0,19	-35,6	18	15	14,8
69	60,5	-12,4	7	9	+28,7	<0,1	<0,2	-	>17	>21	-
34,5	34,5	0	12	12	0	0,36	0,40	11	13	12	7,7

TABLEAU VI

Date		Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	$d\varphi C$		$\frac{\Delta d\varphi C}{d\varphi C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
3-3-67	NO_3	Δ	1658	1926	+16	12,5	13,7	+10	130	137,5	+5,8
	Br		1444	2140	+32,5	12,5	12,5	0	130	135	+3,9
6-3-67	NO_3	Δ	2033	2961	+21	10	12,5	+25	125	135	+8
	NO_3		1926	2300	+19,5	10	13,7	+37	120	127,5	+6,2
	I_{25}		1930	2446	+27,8	10	11,5	+12,5	120	125	+4,15
7-3-67	ClO_4	Δ	1448	2468	+76	7,5	11,2	+50	100	>120	>20
	SCN		1449	1610	+11,1	10	10	0	112,5	112,5	0
8-3-67	SCN	Δ	1770	1931	+9,1	12,5	12,5	0	137,5	137,5	0
	ClO_4		1715	2461	+43,8	11,2	12,5	+16,5	132	142	+7,6
	SCN		1875	2036	+8,5	12,5	15	+20	137,5	140	+1,8
15-3-67	I_{25}	Δ	1552	1338	-13,8	17,5	12,5	-28,6	125	125	0
	Br		1553	1818	+16,8	16,2	10	-38,2	130	112,5	13,5
	I		1716	1446	-15,6	17,5	15	-14,3	130	130	0
20-3-67	NO_3	Δ	1220	1476	+20	7,5	7,5	0	117,5	117,5	0
	I		1070	1070	0	7,5	7,5	0	125	125	0
22-3-67	Br	Δ	1178	1607	+45	10	10	0	120	125	4,1
	NO_3		1070	1220	+15	10	12,5	+25	125	125	0
23-3-67	Br	Δ	750	1028	+37	10	20	+100	117	145	24
	Br		707	1050	+48,5	10	15	+50	117	135	15
	SCN		772	900	+16,6	13,7	13,7	0	130	130	0

TABLEAU VI (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$%	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$%	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$%	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$%
66,5	69	+6,8	7,5	8,8	+17,4	0,15	<0,1	>33	15	>19,5	>26,5
62,5	62,5	0	8	8	0	0,1	0,1	0	19	19	0
21,2	20	-5,7	20	21,5	7,5	<0,1	<0,1	-	>52	>56	-
22,6	18,5	-16	10	14	40	<0,1	<0,1	-	>50	>62	-
21,2	21,2	0	20	20	0	<0,1	<0,1	-	>52	>52	-
40	33	-17,5	10	12,5	+25	<0,1	<0,1	-	>28	>34	-
26,6	29	+9	13,5	13,5	0	<0,1	<0,1	-	>40	>38	-
22, 2	22,2	0	17	17	0	0,20	0,16	-20	34	37	+9,2
22,2	41,6	+88	17	10	41,2	0,16	0,20	+25	37	20	-46
21,7	21,7	0	20	20	0	0,18	0,18	0	41	41	0
25	35,6	+42,5	23,5	15,5	-34	<0,1	<0,1	-	>51	>35	-
27	45,5	+69	21	13,5	-35,6	<0,1	<0,1	-	>47	>29	-
25	28,6	+14,4	23,5	16,5	-30	<0,1	<0,1	-	>51	>41	-
43,5	52,5	+20,6	10	8	-20	<0,1	<0,1	-	>26	>21	-
43	43	0	13,4	13,4	0	<0,1	<0,1	-	>29	>29	-
37	37	0	11,2	11,2	0	<0,1	<0,1	-	>29	>29	-
37	37	0	11,2	11,2	0	<0,1	<0,1	-	>29	>29	-
37	23,8	-35,6	13	26,5	104	<0,1	<0,1	-	>31	>56	-
37	26,4	-28,7	13	19	46	<0,1	<0,1	-	>31	>45	-
37	32,4	-11	13	16,5	27	<0,1	<0,1	-	>31	>37	-

TABLEAU VII

Date	C%	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	$d\varphi C$		$\frac{\Delta d\varphi C}{d\varphi C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
Mashima et Washio	0, 05	Gr	2270	5250	+131	11,2	15,4	+37, 6	33,6	53,2	58,5
Isaacson Sandow	0,1	S Gr			+300			+73,5			33,3
Taylor Preiser Sandow		S Gr	35	100	+186	8,15	12,8	+71,5	46,7	53,7	15
Sandow Taylor Preiser	0,05	S Gr			+111			+60			15
17-12-68	0, 1	Δ	875	1115 772	+27,4	10,7	8, 6 6, 3	+19,7 +41,1	85	>85 >85	43,5
20-11-68	0, 3	Δ	370	476	+28,8	11,8	16,3	+38	96	>96	-
2-4-67	0, 5	Δ	3430	4070 3760	+18,7 + 9, 6	7, 5	6,25 6,25	+16,6 +16,6	101	91 87,5	-10,3 -13,8
7-1-69	0, 5	Δ	995	810 207	+18,6 -79,2	9,95	13,1 10,2	+3,16 +2,55	>45	>45 >45	- -
24-4-67	0, 5	Δ	2790	3330 2570	+19,3 + 7,9	6,25	7,5 12,5	+20 +100	45,2	>45,2 >45,2	- -
19-4-67	0, 5	Δ	2790	3650	+30,8	7,5	8,75	+16,6	87,5	107, 5	+22,9
6-3-67	0, 3	Δ	1930	2140	+10,9	10	15	+50	120	150	+25

TABLEAU VII (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
48,5	44	-9,2	12,4	22,8	+100	<0,1	<0,1	-	>27	>40	
52,3	52,3	0	11	11	0	<0,1	<0,1	-	>24,3	>24,3	-
47,3	63	+33,2	11,4	19,4	+70	<0,1	<0,1	-	>26	>30	-
42,4	38,5	-9,2	15,2	22,3	+46,5	<0,1	<0,1	-	>32	>41	-
43,5	39 42	-10,3 - 3,5	9	9,5 7,5	+5,6 -16,6	0,20	0,35 <0,1	+75 +50	18	13 >24	-28 +32
30	28,2	-6	14,3	14,3	0	0,25	0,35	+40	24	19,3	-
42,5	45 46,5	+5,9 +9,4	11	9,75 8,75	-11,3 -20,5	<0,1	<0,1 <0,1	- -	>27	>25 >23	- -
35,2	33,6 18,7	-4,5 -47	11,7	12,9 18	+10,2 +54	0,25	0,30 0,45	+20 +80	20	19 21,5	-5 +7,5
30,4	30,6 22,6	+0,6 -25,7	10,5	11,5 17	0 +62	<0,1	0,30 0,25	+200 +150	>33	19,5 30	- -
88	81	-10,2	9,4	8,75	-6,9	0,15	0,15	0	20,5	20,5	0
28	16,4	-41,5	20	27,5	+37,5	<0,1	<0,1	-	>43	>70	-

TABLEAU VIII

Date	C%	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$%	dφC		$\frac{\Delta d\varphi C}{d\varphi C}$%	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$%
-3-68	0,01	L	535	770	+44	4	4,5	+12,5	49	56	+14,3
23-4-69	0,25	L	645	900	+39,5	5,5	6,5	+18,2	50	60	+20
				945	+46,5		8	+45,5		>60	>20
				945	+46,5		7,5	+36,4		>60	>20
3-3-68	0,5	L	171	274	+60	5,5	6	+9,1	52	52	0
				274	+60		7	+27,3		>52	-
3-3-68	0,5	L	430	550	+27,9	6	7	+16,6	58	60	+3,45
				567	+31,9		8	+33,3		54	-6,9
7-3-68	1	L	793	1070	+35	5,5	9	+63,5	52	>60	+15,4
7-3-68	1	L	386	472	+22,2	6	5,5	-8,32	50	55	+10
				1222	+21,6		7	+16,6		58	+16
Sandow Taylor Preiser 1965	1	S Gr			+44,5			+55,5			>30,4

TABLEAU VIII (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
87	71,5	-17,8	5	5,5	+10	<0,1	<0,1	-	>13	>15	-
97	81	-16,5	5,5	6	+9,2	0,30	0,15	-50	8	12,5	+56
	51	-47,5		11,5	+109		0,12	-60		23,5	+195
	51,5			9,5	+73		0,30	0		14	-
54,5	77	+41,2	8	7	-12,5	<0,1	<0,1	-	>21	>16	-
	35	-35,7		10	+25		<0,1	-		>30	-
75	67	-17	6,25	7	+12	<0,1	<0,15	-	>15	>14,5	-
	48,5	-35,4		7	+12		<0,20	-		>14,5	-
111	37	-67	5,5	10	+82	0,25	0,25	0	8	18	+125
91	91	0	6,5	6	-7,7	0,15	0,15	0	11,5	11	-4
	40	-56		10,5	+61,5		<0,1	-		>28	
35	26,4	-24,6	21	23,7	+12,8	<0,1	<0,1	-	>41	>50	>22

TABLEAU IX

te	C%	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$%	$d_{\varphi}C$		$\frac{\Delta d_{\varphi}C}{d_{\varphi}C}$%	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$%
5-68	0,2	Δ	421	721 842	+71 +100	10,9	9,5 10,1	-12,8 -8	- -	- -	- -
5-68	0,2	Δ	402	636 468	+58 +16,3	7,3	7,9 8,5	+8,2 +16,4	70,5	75,5 70,5	7,1 0
5-68	0,5	Δ	836	1720 1455	+106 +73	8,4	7,7 8,4	-8,3 0	- -	- -	- -
4-5-68	0,5	Δ	665	562 584	-15,5 -12,1	9,5	10,2 9	+7,3 -5,5	- -	- -	- -
0-3-69	0,4	L	782	900	+15,1	6,5	8,5	+34	-	-	-
4-3-69	0,4	L	835	1071	+28,3	6,5	7	+7,1	41	-	-
18-4-69	0,5	L	557	1071	+92	4,5	8	+77,7	50	-	-
22-4-69	0,5	L	428	592	+38,3	3	4	+33,3	-	-	-
16-4-69	0,8	L	480	582	+21,2	6	7	+16,6	-	-	-
15-4-69	1	L	535	815	+53,5	5,5	7	+27,2	-	-	-
14-4-69	1	L	729	1010	+38,6	5,5	6,5	+18,3	-	-	-
Sandow Isaacson	0,5	S Gr			+80			+66,6			+50

TABLEAU IX (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
34,5	34,2 35,6	0 +4,1	16,3	16,3 14,4	0 -11,6	<0,1	0,35 0,1	+250 -	>36	21,5 >34	-40 -
35,4	35,4 30,6	0 -13,5	12,7	12,7 16	0 +26	<0,1	<0,1 <0,1	<0,1 <0,1	>32	>32 >38	- -
38,8	25,5 23,2	-34,2 -40	12,6	13,7 17	+8,7 34,8	<0,1	<0,1 <0,15	<0,1 -	>30	>41 >34	- -
38,2	22,2 11,2	-42 -70,6	12,2	15,8 18	+29,5 47,5	<0,1	<0,2 <0,40	- -	>30	>34 >28	- -
67	63,6	-5,1	6,5	8	+23	0,25	0,25	0	11	12,5	+13,7
85,5	85,5	0	5,5	5,5	0	0,15	0,15	0	11,3	11,3	0
85,5	86		4,5	7	+33	0,35	<0,1	-	12 6,5	>15	+>25
161	85	-47	4	5,5	+9,1	0,25	0,35	+40	6	7	+16,7
80	67,5	-15,5	5	7	+40	0,25	0,20	-20	8,5	14	+65
85	86,5	+1,7	5,75	6,25	+8,7	0,30	0,30	0	8,7	9,2	+5,7
70	64,5	-7,9	6	7,25	+20,8	0,15	0,15	0	13	16	+23
64	53	-17,5	7,6	12,8	+68	<0,1	<0,1	<0,1	>19	>26	-

TABLEAU X

Date	C%	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	$d_\varphi C$		$\frac{\Delta d_\varphi C}{d_\varphi C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
4-10-68	0,25	Δ	714	650	-8,85	5,2	5,87	+12,9	-	-	-
8-10-68	0,2	Δ	642	670 582	+4,2 -9,3	5,2	5,2 4,52	0 -13	36,1	36,1 >36,1	0 -
27-1-69	0,2	L	514	600	+17	8	8	0	48	>50	-
28-1-69	0,2	L	549	566	+4	7	7	0	>50	>50	-
29-1-69	0,4	L	985	1071	+8,7	6	5,5	-8,3	50	49	-2
12-2-69	1	L	728	835	+14,7	7	6	-14,5	54	>54	-
17-2-69	3	L	454	531	+16,1	7	6	-14,5	>50	>50	-

TABLEAU X (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
31,6	33,6	+6	9,95	9,5	-5,5	0,25	<0,20	->20	19	>31	+>10,3
80,6	69 59,5	-14,4 -26,1	5,5	6,1 7,3	+9 +32,6	0,25	0,30 <0,1	>20	9,5	9,5 >19	0 +>100
92,5	81,3	-11,8	5,5	6	+9,1	0,25	0,25	0	9	10,5	+16,7
80	80	0	5,5	5,5	0	0,35	0,40	+14,3	7	6,25	-10,7
62,5	75	+20	5,5	5,5	0	0,20	0,20	0	12	8	-33,3
74	74	0	5,5	5	-9,1	0,30	0,30	0	8,5	8,5	0
65	74	+14	5,5	5,5	0	0,25	0,25	0	10,5	9,5	-9,5

TABLEAU XI

Date	C	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	dφC		$\frac{\Delta d\varphi C}{d\varphi C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
26-4-68	0,25	Δ	422	734	+74	7,9	5,6	-28,5	>45	>45	-
				608	+44		7,9	0		>45	-
23-4-68	0,5	Δ	1170	1640	+40	8,6	5,6	-34,2	>45	36,2	>19,5
				1700	+46		5,2	-39,5		38,4	>14,5
23-4-68	0,5	Δ	1229	2080	+69	10,2	10,4	+4	45	>45	-
				1310	+6,6		8,6	-31		>45	-
2-4-68	2	Δ	221	375	+70	9	9	0	>45	>45	-
				302	+36,5		12,2	+35,5		>45	-
25-4-68	1	Δ	384	598	+55,5	10,8	9,1	-17,5	>45	>45	
				431	+12		9,1	-17,5		>45	-
2-4-68	1	Δ	260	678	+161	6,7	7,2	+7,4	38,4	>45	>17,2
				630	+142		9	+34,5		>45	>17,2
3-5-68	4	Δ	701	880	+25,5	9,1	8,1	-11	>45	>45	-
				540	+23		9,1	0		>45	-
4-4-68	4	Δ	447	562	+25,5	9,1	7,45	-18	>41	>41	-
				515	+15		10,1	-11		>41	-
10-1-69	50	L	309	379	+23	6	7,5	+25	>55	>55	-
13-1-69	100	L	432	502	+16,2	7	7,5	+7,1	>50	>55	-
7-1-69	100	L	247	301	+22	7	9	+28,5	>55	>55	-
14-1-69	100	L	247	270	+9,3	7	8	+14	>55	>55	-
	200		247	285	+15,3	7	9	+28,5	>55	>55	-
10-2-69	400	L	405	405	+28,5	6	7	+16,6	50	50	0
11-2-69	400	L	985	1220	+24	7,5	8	+6,6	55	>55	-

TABLEAU XI (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}\%$	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}\%$	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}\%$	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}\%$
40,6	-38,4 -40,2	-5,4 -1	12,9	9,9 12	-23 -7	0,35	<0,1 0,25	-28,5	16,3	28,3 19,2	+74 17
52,1	+66 +60	+27 +15,2	10,1	7,45 7,25	-35,5 -39	<0,1	<0,1 <0,1		24,9	17,8 18,5	-28 -22
48,5	+51,6 -38,6	+6,4 -22	9,5	10,4 11,7	+10 +23	<0,1	<0,1 <0,1		23,4	23,4 29,3	0 +25
41	-40,2 -28,5	-2 -30,5	10,8	13 16,2	+20 +50	<0,1	<0,1 <0,1		>24,3	>20,4 -	>16 -
22,2	-33,6 +35	+51,5 +57,5	15,6	13 13	-16,5 -16,5	<0,1	<0,1 <0,1		23,2	33,4 32,4	+43,5 +39
28	+43,8 +25,4	+56,5 +9,3	18,7	15 23	-19,8 +23	ind.	<0,1 ind.		- -	- -	- -
23	+28,8 +26	+25 +13	13,3	15,8 12,1	+18,5 -9	<0,2	0,35 <0,2	-	>30,6	21,5 >27,1	+>25 -
57,5	-37,2 -34	-35 -41	7,25	8,5 10,8	+17,3 +49	0,25	<0,1 <0,1		12,5	>27 >30	+>116 +>140
55	48,4	-12	5,5	6,5	+18,2	0,25	0,25	0	9,5	12,5	+31,6
71,5	71,5	0	6	6	0	0,15	0,15	0	13	13	0
65	59	-9,25	6	8,5	+42	0,35	0,15	-57	8,5	18	+112
52	48,3	-7,1	8,25	9,5	+15,2	0,40	0,35	-12,5	10	13	+30
52,5	46	-12,4	8,25	9,5	+15,2	0,40	0,35	-12,5	10	13	+30
87,5	70	-20	4,9	5,8	+18,4	0,20	0,35	+75	10	8,5	-15
62,5	45	-28	6,5	9	+38,4	0,30	0,35	+14,3	10	12,5	+25

TABLEAU XII

Date	C		P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	$d_{\omega}C$		$\frac{\Delta d_{\varphi}C}{d_{\varphi}C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
30-4-69	0,05	KB	730			6,5			52		
		Ca	600	688	+14,6	5	6	+20	56	>56	-
		KN		752	+25,4		6,5	+30		55	1,78
5-5-69	0,1	KT	471			6					
		Ca	368	540	+46,8	6,5	8	+30	-		
		KN		496	+35,9		9	+38,5			
2-5-69	0,1	KB	437			6					
		Ca	394	420	+6,6	5,5	5	-9,1	-		
		Ca		445	+12,9		5	-9,1			
				308	-21,8		5,5	0			
9-5-69	0,1	KT	558			6					
		Ca	666	723	+8,55	7	8,5	+21,4			
12-5-69	0,1	KB	730			6			50		
		Ca	773	899	+16,3	5	5,5	+10	53	>55	>3,78
				473	-38,8		5	0		52	1,89
13-5-69	0,1	KT	773			6			52		
		Ca	580	1052	+81	7	9	+28,6	>52	>52	
				236	-59,2		7	0		>52	
14-5-69	0,1	KB	558			6			53		
		Ca	279	430	+54,1	4,5	5	+11,1	55	55	0
				172	-38,3		4	-11,1		-	
2-6-69	0,1	KT	568			7			-		
		Ca	386	258	-32,6	6,5	5	-30	-	-	-
13-5-69	1	KT	380			8,6					
		Ca	226	271	+19,9	6,7	8,6	+26,9	-	-	-

TABLEAU XII (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
73,5			5,5			0,15			13		
73,5	65	-11,6	5,5	5,5		0,15	0,15		13	13,5	+3,85
	59	-19,7		6,5	+18,2		0,20	+33,3		13,5	+3,85
70,5			5,8			0,25			10		
61	44	-27,8	6,6	8,6	+30,3	0,30	0,26	-16,6	10	12	+20
	29,5	-51,6		12,6	+91		0,15	-50		33	+230
74,5			6,8			0,15			13		
77	72	-6,5	6	7	+20	0,15	0,15	0	13	14	+7,7
	72,5	-5,8		5,2	-13,3		0,15	0		12	-7,7
	73,5	-4,5		6,2	+3,33		0,25	+66,6		10	-23
67,5			7,3			0,15			15		
50,5	35,8		8	11,8	+47,5	0,25	0,25	0	14	20	+42,9
90			5,5			0,25			9		
80	69	-29,1	5,5	5,5	0	0,25	0,25	0	10	10	0
	62,5	-21,9		5,5	0		0,15	-40		15	+50
63			5,6			0,15			14		
27,1	25,5	-5,9	11,2	14,5	+29,5	0,15	0,20	+33,3	33	31	-6,05
	25,7	-5,16		15,7	+40		<0,1			>42	+27,3
90			5			0,15			11		
85,5	87	-1,75	4,5	4,2	-6,75	0,25	0,25		8,5	8	-5,86
	81	-5,25		4,5	6,7		0,15	-40		9,2	+7,6
47,5			7,5			0,40			9,5		
	42,5			7,5			0,40			9,5	
50			9,2			0,30			13,5		
52	37,6	-27,7	8,2	10,8	+31,7	0,30	<0,1	-66	13,5	>29	+>115

TABLEAU XIII

Date	C	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	dφC		$\frac{\Delta d\varphi C}{d\varphi C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
Caputo Gimenez 1967		Fibre 2 L. Oc.	– –	– –	+5,2 0	4,9	4,9 3,8	0 -21,4	-	-	-
13-5-69	0,25	D	380	226	-40,5	8,6	6,8	-21,1	>45	>45	-
12-5-69	0,25	L	730	773	+31,5	6	5	-16,6	50	53	-
13-5-69	0,25	L	773	580	-25	6	7	-16,6	52	>52	
14-5-69	0,1	L	558	279 0	-50 -100	6	4,5 -	-23,1 -	53 -	55 -	-
2-6-69	0,1	L	568	386	-32	7	6,5	-7,14	-	-	-

Phase de relaxation non exponentielle.

Logarithme de la droite de tension non linéaire.

TABLEAU XIII (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
43,5	28,5 31,6	-34,4 -29,7	16,5	14,5 11,5	-12,1 -30,3	<0,1	<0,1 <0,1	- -	>32	>38 >34	- -
50	52	+4	9,2	8,2	+10,9	0,30	0,30	0	13,5	13,5	0
90	80	-11,1	5,5	5,5	0	0,25	0,25	0	9	10	+11,1
63	27,1	-54	5,6	11,2	+100	0,15	0,15	0	14	33	+136
90 -	86,5 -	-3,9 -	5 -	4,3 -	-14 -	0,15 -	0,15 -	0 -	11 -	10 -	-9,1 -
47,5	(°)		7,5	(°)		0,40	(°)		9,5	(°)	

TABLEAU XIV

Date	C	Type muscle	P		$\frac{\Delta P}{P}$ %	dφC		$\frac{\Delta d\varphi C}{d\varphi C}$ %	Dt		$\frac{\Delta Dt}{Dt}$ %
29-4-69		Δ	450	450	0	8,6	7,2	+16,1	-	-	-
Mandrino 31-10-68		C. Gr			+9,36	17,5	17,5	0	-	-	-
Mandrino 31-1-69		C. Gr									
24-10-69		EDLIV Gr	1120	1510	+34,9	7,45	7,45	0	40,6	>40,6	-
16-10-69		EDLIV Gr	1408	1340	-4,6	6,32	8,55	+35,2	33,8	33,8	0
23-8-68	4	EDLIV Gr	4160	7000 2800	+68,2 +32,6	10,15	14,2 13,5	+42 +35	36,1	40,6 >40,6	+64 >64
19-9-68	1	EDLIV Gr	1180	2900 1720	+145 +51	5,7	8,6 12,4	+51 +117	36	36 39,5	0 +9,2
16-10-68	1	EDLIV Gr	1340	2910	+116,5	8,55	9,7	+13,4	33,8	>40,6	+20
17-9-68	4	EDLIV Gr	3980	5650 3750	+42 +5,8	7,9	10,7 7,9	+35,5 0	- -	- -	- -
Sandow Isaacson 1966	1	S. Gr.			+350			+166,5			+115

TABLEAU XIV (Suite)

m		$\frac{\Delta m}{m}$ %	t_{50}		$\frac{\Delta t_{50}}{t_{50}}$ %	P_D		$\frac{\Delta P_D}{P_D}$ %	t_D		$\frac{\Delta t_D}{t_D}$ %
54,6	53,5	-2	8,35	8,35	0	0,30	0,40		12,4	10,4	-16,1
30,1	29,2	-2,9	12,5	13,5	+8	0,30	0,30	0	20	21	+5
40	20,4	-49	19,7	33,6	+70,5	<0,1	-	-	>37	-	-
67,5	56	-17	8,35	9,7	+16,2	<0,1	<0,1	-	>15	>22	-
86,2	87,6	+1,6	5,9	7,8	+32,1	<0,1	<0,1	-	>16	>19	-
63,7	58,5	8,2	10,8	13,2	+22	<0,1	<0,1	-	>21	>31	
	47,5	25,4		19,2	+68,5		<0,1	-		>28	-
85	84	-1,8	9,2	10	+8,7	<0,1	<0,1	-	>18	>17	-
	85	0		9,2	0		<0,1	-	-	>18	-
87,6	89,4	+2,2	7,8	11,8	+51,3	<0,1	0,35	>+250	>19	13,5	>+29
58,8	63,2	+7,6	7,9	11,5	+45,5	<0,1	<0,1	-	>19	>22	-
	62,5	+6,3		9,4	+19		<0,1	-		>20	-
73	46	-37	7,1	18,4	+131	<0,1	<0,1	-	>18	>34	-

Tableau XVIII

	UO_2^{++}	0,25µM	1µM	4µM	10µM	0,05mM	0,1mM	0,5mM
Diaphragme	Tension Secousse	+	+	+	−	−	−	−
	Durée Phase Ascendante	−	−	−	−	−	−	−
Lombrical	Tension Secousse					+	+	+
	Durée Phase Ascendante					+	+	+

Tableau XIX

mM/L		0,005	0,01	0,02	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1	2	3	4
Zn^{++}	D		0	+	+	+	+	+	+	+	augmentation de tension due à une activité répétitive			
	L	0	+	+	+	+	+	+	+	+				
Cd^{++}	D					0	+	+	+	+				
	L					0	+	+	+	+				
Ni^{++}	D								0	+	+	+	−	−
	L					0	+	+	+	+	+	+	+	−

B I B L I O G R A P H I E

ABBOTT, B.C., AUBERT, X.M. et HILL, A.V. - The absorption of work by a muscle stretched during a single twitch of a short tetanus.
1951, Proc.Roy.Soc.B, t.139, pp 86-104.

ADRIAN, R.H., CHANDLER, W.K. et HODGKIN, A.L. - The kinetics of mechanical activation in frog muscle.
1969, J.Physiol.,(London), t. 204, pp 207-230.

ADRIAN, R.H., COSTANTIN, L.L. et PEACHEY, L.D. - Radial spread of contraction in frog muscle fibers.
1969, J.Physiol., (London), t. 204, pp 231-257.

ALVARADO-MALLART, R.M. - Effet de la carence en vitamine B_1 sur le profil histochimique du muscle diaphragme du Rat.
1973, Colloque International d'Histochimie, Tours, (sous presse).

ARGIBAY, J. et CAPUTO, C. - Effect of Ca^{++} deprivation on frog skeletal muscles at different pH values.
1971, J.Membrane Biol., t. 4, pp 68-73.

ARMSTRONG, C.M., BEZANILLA, F.M. et HOROWICZ, P. - Twitches in the presence of ethylene-glycol bis (-aminoethyl ether)-NN'-tetraacetic acid.
B.B.A. (41 210).
1972, Biochim.Biophys.Acta, t. 267, pp 605-608.

ASHLEY, C.C. et RIDGWAY, E.B. - On the relationships between membrane potential,calcium transient and tension in single barnacle muscle fibers.
1970, J.Physiol., t. 209, pp 105-130.

AUBERT, X.M. - Le couplage énergétique de la contraction musculaire.
1956, Thèse Arscia, Bruxelles.

BAHLER, A.S. - Modeling of mammalian skeletal muscle.
1968, IEEE Trans. on Bio.Med.Eng, t. 15, pp 245-257.

BAHLER, A.S. - Mechanical properties of relaxing frog skeletal muscle.
1971, Amer.J.Physiol., t. 220, pp 1983-1990.

BAHLER, A.S., FALES, J.T. et ZIERLER, K.L. - The dynamic properties of mammalian skeletal muscle.
1968, J.Gen.Physiol., t. 51, pp 369-384.

BÁRÁNY, M. - ATPase activity of myosin correlated with speed of muscle shortening.
1967, J.Gen.Physiol., t. 50, pp 197-216.

BENOIT, P.H., ETZENSPERGER, J. et SANTINELLI, J. - Renforcement de la secousse musculaire sous l'action de l'ion sulfocyanate.
1957, J.Physiol., (Paris), t. 49, pp 46-49.

BIANCHI, C.P. et SHANES, A.M. - Calcium influx in skeletal muscle at rest, during activity, and during potassium contracture.
1959, J.Gen.Physiol., t. 42, pp 803-819.

BIRKS, R.I. - The SR of twitch fibers in the frog sartorius muscle.
1964, Proc. of Symp. Muscle, Fac.Med., Univ. of Alberta.

BIRKS, R.I. et DAVEY, D.F. - Osmotic responses demonstrating the extracellular character of the sarcoplasmic reticulum.
1969, J.Physiol., (London), t. 202, pp 171-188.

BRECHT , K. et GEBERT, G. - Direct action of extracellular Ca ions on skeletal muscle.
1966, Experientia, t. 22, p 1.

BROTCHI, J. - Identification histoenzymologique des fibres lentes et rapides dans les muscles squelettiques des Vertébrés.
1968, Ann.Arch.Int.Physiol.Bioch., t. 76, pp 299-310.

BRUST, M. - Combined effect of nitrate and caffeine on contraction of skeletal muscle.
1965, Amer.J.Physiol., t. 208, pp 430-431.

BRUST, M. - Agents wich affect excitation-contraction coupling in normal and dystrophic muscle.
1969, Fed.Proc, t. 28, pp 1649-1656.

BULLER, A.J. et LEWIS, D.M. - The rate of tension development in isometric tetanic contractions of mammalian fast and slow skeletal muscle.
1965, J.Physiol., (London), t. 176, pp 337-354.

BUSS, W.C. et FRANK, G.B. - Caffeine induced contractures in mammalian skeletal muscle.
1967, J.Gen.Physiol., t. 50, p 1082.

BUSS, W.C. et FRANK, G.B. - Calcium and excitation contraction coupling in mammalian skeletal muscle.
1969, Arch.Int.Pharmacodyn., t. 181, pp 15-26.

CAPUTO, C. - The role of Ca in the processes of excitation and contraction in skeletal muscle.
1968, J.Gen.Physiol., t. 51, pp 180-187.

CAPUTO, C. et GIMENEZ, M. - Effects of external calcium deprivation on single muscle fibres.
1967, J.Gen.Physiol., t. 50, pp 2177-2195.

CARAFOLI, E; - Calcium ion transport in mitochondria.
1969, Biochem.J., t. 116, pp 2-3P.

CARAFOLI, E., PATRIARCA, P. et ROSSI, C.S. - A comparative study of the role of mitochondria and the sarcoplasmic reticulum in the uptake and release of Ca^{++} by the rat diaphragm.
1969, J.Cell.Physiol., t. 74, pp 17-30.

CARPENI, N. - Action renforçatrice de l'anion nitrate et modifications associées du potentiel d'action des fibres musculaires du diaphragme isolé du Rat.
1963, C.R.Soc.Biol., t. 157, pp 988-991.

CARVALHO, A.P. - Binding of cations by microsomes from rabbit skeletal muscle
1966, J.Cell.Physiol., t. 67, pp 73- 83.

CARVALHO, A.P. - Effects of potentiations of muscular contraction on binding of cations by sarcoplasmic reticulum.
1968, J.Gen.Physiol., t. 51, pp 427-442.

CARVALHO, A.P. - Binding and release of cations by sarcoplasmic reticulum before and after removal of lipid.
1972, Eur.J.Biochem., t. 27, pp 491-502.

CARVALHO, A.P. et LEO, B. - Effects of ATP on the interaction of Ca^{++}, Mg^{++}, and K^{+} with fragmented sarcoplasmic reticulum isolated from rabbit skeletal muscle.
1967, J.Gen.Physiol., t. 50, pp 1327-1352.

CARVALHO, A.P., MADEIRA, V.M.C. et ANTUNES-MADEIRA, M.C. - Effects of potentiation of muscular contraction on contractile element and enzymatic activities of sarcolemma.
1971, Biochem.Biophys.Acta, t. 234, pp 210-221.

CARVALHO, A.P. et MOTA, A.M. - The role of ATP and of a bound phosphoryl group acceptor on Ca binding and exchangeability in sarcoplasmic reticulum.
1971, Arch.Biochem.Biophys., t. 142, pp 201-212.

CAVAGNA, G.A. - The series elastic component of frog gastrocnemius.
1970, J.Physiol., (London), t. 207, pp 257-262.

CHEVAL, J.- Changeurs d'impédance à transistor à effet de champ.
1966, Electr. et Electromec.Appl.à la Neurophysiologie, Bull.Inf. Tech.CNRS, pp 10-12.

CHEVAL , J., PRZYBYSLAWSKI, J. et REISS, G. - Renforcement de la secousse du diaphragme isolé de rat sous l'action de divers anions anormaux.
1967, J.Physiol.,(Paris), t. 59, pp 373-374.

CLOSE, R. - The relation between intrinsec speed of shortenning and duration of the active state of muscle.
1965, J.Physiol.,(London), t. 180, pp 542-550.

CLOSE, R. - Dynamic properties of mammalian skeletal muscle.
1972, Physiol.Rev., t. 52, pp 129-197.

CLOSE, R. et HOH, J.F.Y. - Influence of temperature on isometric contraction of rat skeletal muscle.
1968, Nature, t. 217, pp 1179 - 1180.

CLOSE, R. et HOH, J.F.Y. - The after effect of repetitive stimulation on the isometric twitch contraction of rat fast skeletal muscle.
1968, J.Physiol., (London), t. 197, pp 461-477.

COSTANTIN , L.L. - The effect of calcium on contraction and conductance thresholds in frog skeletal muscle.
1967, J.Physiol.,(London), t. 195, pp 119-132.

COSTANTIN , L.L. - The role of sodium current in the radial spread of contraction in frog muscle fibers.
1970, J.Gen.Physiol., t. 55, pp 703-715.

DAVIES, R.E. - A molecular theory of muscle contraction : Ca-dependent contractions with hydrogen bound formation plus ATP-dependent extension of part of the myosin actin cross bridges.
1963, Nature, t. 199, pp 1068-1074.

DESMEDT, J.E. et HAINAUT, K. - Kinetics of myofilament activation in potentiated contraction : staircase phenomenon in human skeletal muscle.
1968, Nature, t. 217, pp 529-532.

DUMOULIN, C. et MARECHAL, G. - Transient changes in the force velocity relationship during tetanic contraction of frog sartorius muscle, normal or poisoned with 1-fluoro-2-4- dinitrobenzene.
1970, Pflugers Arch., t. 316, pp 114-131.

EBASHI, S. et ENDO, M. - Calcium ion and muscle contraction.
1968, Prog.Biophys.Biophys.Chem., t. 18, pp 125-183.

EDMAN, K. - Zinc induced relaxation of muscle fibres.
1960, Acta Physiol.Scand., t. 49, pp 330- 342.

EDMAN, K. - On the binding of Zn and mersalyl to the contractile element in muscle and the relation to its relaxation.
1960, Acta Physiol.Scand., t. 49, pp 82-91.

EDMAN, K. - The rising phase of the active state in single skeletal muscle fibers of the frog.
1970, Acta Physiol.Scand., t.79, pp 167-173.

EDMAN, K., GRIEVE, D.W. et NILSSON, E. - Studies of the excitation contractic mechanism in the skeletal muscle and the myocardium.
1966, Pflugers Arch., t. 290, pp 320-334.

EDMAN, K. et KIESSLING, A. - The time course of the active state in relation to sarcomere length and movement studied in single skeletal muscle fibers of the frog.
1971, Acta Physiol.Scand., t. 81, pp 182-196.

EDWARDS, C. et LORKOVIC, H. - The roles of calcium in excitation contraction coupling in various muscle of the frog, mouse and barnacle.
1967, Amer.Zoologist, t. 7, pp 615-622.

ENDO, M., TANAKA, M. et OGAWA, Y. - Calcium induced release of calcium from the sarcoplasmic reticulum of skinned skeletal muscle fibers.
1970, Nature, t. 228, pp 34-36.

ETZENSPERGER, J. - Renforcement de la secousse musculaire par l'ion potassium Etude myographique et electrophysiologique sur fibre unique du cou - turier de Grenouille.
1961, C.R.Soc.Biol., t. 155, pp 831-835.

ETZENSPERGER, J. - Etude des réponses electriques et mécaniques de la fibre musculaire striée intoxiquée par la vératrine. Incidences sur le problème du couplage excitation contraction.
1962, C.R.Soc.Biol., t. 156, pp 1125-1130.

ETZENSPERGER,J. - Effets d'un changement progressif de la concentration en calcium du milieu physiologique normal sur le potentiel d'action et la secousse de la fibre musculaire squelettique de Grenouille.
1970, J.Physiol.,(Paris), t. 62, pp 299-313.

ETZENSPERGER, J. et BRETONNEAU, Y. - Potentiel consécutif et durée de l'état actif de la fibre musculaire striée.
1956, C.R.Soc.Biol., t. 150, pp 1777- 1781.

FALK, G. - Predicted delays in the activation of the contractile system.
1968, Biophys.J., t. 8, pp 608-625.

FISCHMAN, D.A. à SWAN, R.C. - Nickel substitution for calcium in excitation-contraction coupling of skeletal muscle.
1967, J.Gen.Physiol., t. 50, pp 1709-1728.

FRANK, G.B. - Effects of changes in extracellular Ca^{++} concentration on the potassium induced contracture of frog's skeletal muscle.
1960, J.Physiol., (London), t. 151, pp 518-538.

FRANK, G.B. - Maximum activation of the contractile mechanism in frog's skeletal muscle by potassium depolarization.
1960, J.Physiol., (London), t. 154, pp 345-353.

FRANK, G.B. - The influence of bromide ions on excitation contraction coupling in frog's skeletal muscle.
1961, J.Physiol., (London), t. 156, pp 35-48.

FRANK, G.B. -Utilization of bound calcium in the action of caffeine and certain multivalent cations of skeletal muscle.
1962, J.Physiol., (London), t. 163, pp 254-268.

FRANKENHAEUSER, B. et LANNERGEN, J. - The effect of calcium on the mechanical responses of single twitch muscle fibers of Xenopus laevis.
1967, Acta Physiol.Scand., t. 69, pp 242-254.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. - Studies of the triad. I. Structure of the junction in frog twitch fibres.
1970, J.Cell Biol., t. 47, pp 488-499.

FRANZINI-ARMSTRONG, C. - Studies of the triad. II. Penetration of tracers into the junctional gap.
1971, J.Cell Biol., t. 49, pp 196-203.

GAGE, P.W. et EISENBERG, R.S. - Action potential without contraction in frog skeletal muscle fibers with disrupted transverse tubules.
1967, Science, t. 158, pp 1702-1703.

GAUTHIER, G.F. et PADYKULA, H. - Cytological studies of fiber types in skeletal muscle. A comparative study of the mammalian diaphragm.
1968, J.Cell Biol., t. 28, pp 333-354.

GILLIS, J.M. - Le role du calcium dans le contrôle intracellulaire de la contraction musculaire.
1972, Thèse, Vander, Louvain.

GODFRAIND-DE BECKER, A. - Effet de l'iodurè, potentiateur de la secousse musculaire, sur la thermogénèse du tétanos.
1965, Arch.Int.Physiol.Bioch., t. 73, pp 162-163.

GONZALES SERRATO, H. - Inward spread of activation in vertebrate muscle fiber
1971, J.Physiol., (London), t. 212, pp 777-799.

GORDON , A.M., HUXLEY, A.F. et JULIAN, J. - The variation in isometric tensio
with sarcomere length in vertebrate muscle fibers.
1966, J.Physiol., (London), t. 184, pp 170-192.

GUTTMAN, E. et HANZLIKOVA, V. - Contractures responses of fast and slow mammalian muscles.
1966, Physiol.Bohem., t. 15, pp 404-414.

GUTTMAN, E. et SANDOW, A. - Caffeine induced contracture and potentiation of contraction in normal and denervated rat muscle.
1965, Life Sciences, t. 4, pp 1145-1155.

HASSELBACH, W. - Relaxation and the sarcotubular calcium pump.
1964, Fed.Proc., t. 23, pp 909-912.

HASSELBACH, W. et MAKINOSE, M. - Ueber der Mechanismus des Calciumtransportes durch die Membranen des Sarkoplasmatichen Reticulum.
1963, Biochem.Z., t. 339, pp 94-111.

HAJDU, S. - Effect of drugs, temperature, and ions on Ca^{++} of coupling system of skeletal muscle.
1970, Amer.J.Physiol., t. 218, pp 966-971.

HELLAM, D.C. et PODOLSKY, R.J. - Force measurements in skinned muscle fibers.
1969, J.Physiol., (London), t. 200, pp 807-819.

HILL, A.V. - On the time required for diffusion and its relation to processes in muscle.
1948, Proc.Roy.Soc.B, t. 135, pp 446-453.

HILL, A.V. - The abrupt transition from rest to activity in muscle.
1949, Proc.Roy.Soc.B, t. 136, pp 399-420.

HILL, A.V. - Is relaxation an active process?
1949, Proc.Roy.Soc.B, t. 136, p 420.

HILL, A.V. - The influence of temperature on the tension developed in an isometric twitch.
1951, Proc.Roy.Soc.B, t. 138, pp 349-354.

HILL, A.V. - The efficiency of mechanical power development during muscular shortenning and its relation to load.
1964, Proc.Roy.Soc. B, t. 159, pp 319-324.

HILL, A.V. - The effect of tension in prolonging the active state in a twitch
1964, Proc.Roy.Soc. B, t. 159, pp 589-595.

HILL, A.V. - First and last experiments in muscle mechanics
1970, Cambridge University Press.

HILL, D.K. - The effect of temperature in the range 0-35°C on the resting tension of frog's muscle.
1970, J.Physiol., (London), t. 208, pp 725-739.

HILL, D.K. - The effect of temperature on the resting tension of frog's muscle in hypertonic solution.
1970, J.Physiol., (London), t. 208, pp 741-756.

HILL, D.K. - Resting tension and the from of the twitch of rat skeletal muscle at low temperature.
1972, J.Physiol., (London), t. 221, pp 161-171.

HODGKIN, A.L. et HOROWICZ, P. - Potassium contracture in single muscle fiber.
1960, J.Physiol., (London), t. 153, pp 386-403.

HODGKIN, A.L. et HOROWICZ, P. - The effects of nitrate and other anions on the mechanical response of single muscle fibers.
1960, J.Physiol., (London), t. 153, pp 404-412.

HOLLOSZY, O. et NARAHARA, H. - Nitrate ions : potentiation of increased permeability to sugar associated with muscle contraction.
1967, Science, t. 155, pp 573-575.

HOWELL, J.M. - A lesion of the transverse tubules of skeletal muscle.
1969, J.Physiol., (London), t. 201, pp 515-533.

HUXLEY, A.F. - Muscle structure and theories of contraction.
1957, Prog.Biophys.Biophys.Chem., t. 7, pp 257-318.

HUXLEY, A.F. et NIEDERGERKE, R. - Interference microscopy of living muscle fibers.
1954, Nature, t. 173, pp 971-972.

HUXLEY, A.F. et SIMMONS, R.M. - Proposed mechanism of force generation in striated muscle.
1971, Nature, t. 223, p 533.

HUXLEY, A.F. et TAYLOR, R.E. - Local activation of striated muscle fibres.
1958, J.Physiol., (London), t. 144, pp 426-441.

HUXLEY, H.E. - The mechanism of muscular contraction.
1969, Science, t. 164, pp 1356-1366.

HUXLEY, H.E. et HANSON, J. - Change in the cross striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation.
1954, Nature, t. 173, pp 973-976.

ISAACSON, A., HINKES, M.J.et TAYLOR, S.R. - Contraction and twitch potentiation of fast and slow muscle of the rat a 20 and 37°C.
1970, Amer.J.Physiol., t. 218, pp 33-41.

ISAACSON, A. et SANDOW, A. - Effect of Zn on response of skeletal muscle.
1963, J.Gen.Physiol., t. 46, pp 655-677.

JEWELL, B.R. et WILKIE, D.R. - An analysis of the mechanical component in frog's striated muscle.
1958, J.Physiol., (London), t. 143, pp 515-540.

JEWELL, B.R. et WILKIE, D.R. - The mechanical properties of relaxing muscle.
1960, J.Physiol., (London), t. 152, pp 30-47.

JULIAN, F.J. - Activation in a skeletal muscle contraction model with a modification for insect fibrillar muscle.
1969, Biophys.J., t. 9, pp 547-570

KAO, C.Y. et STANFIELD, P.R. - Actions of some anions on electrical properties and mechanical threshold of frog twitch muscle.
1968, J.Physiol., (London), t. 198, pp 291-309.

KAO, C.Y. et STANFIELD, P.R. - Actions of some cations in the electrical properties and mechanical threshold of frog sartorius muscle fibers.
1970, J.Gen.Physiol., t. 55, pp 620-639.

KELLY, D.E. - The fine structure of skeletal muscle triad junctions.
1969, J.Ultrastructure Res., t. 29, pp 37-49.

KULCZYCKY, S. et MAINWOOD, G.W. - Evidence for a functional connexion between the sarcoplasmic reticulum and the extracellular space in frog sartorius muscle.
1972, Can.J.Physiol.Pharmacol., t. 50, pp 87-98.

LILEY, A.W. - An investigation of spontaneous activity at the neuromuscular junction of the rat.
1956, J.Physiol., (London), t. 132, p 650-666.

LORKOVIC, H. - Effects of some divalent cations on frog twitch muscles.
1967, Amer.J.Physiol., t. 212, pp 623-628.

LUFF, A.R. et ATWOOD, H.L. - The effect of nitrate ion on glycerol-treated frog skeletal muscle fibers.
1970, Can.J.Physiol.Pharmacol., t. 48, pp 813-816.

LÜLLMANN, H. et REIS, E. - Uber dem Zusammenhang zwischen Membranpotential und Kalium bzw. Acetylcholin-Kontraktur am chronisch denervierten Rattenzwerchfell.
1967, Pflugers Arch., t. 294, pp 113-118

LÜTTGAU, H.C. - The action of calcium ions on potassium contractures of a single muscle fibers.
1963, J.Physiol.,(London), t. 168, pp 679-697.

Mac CALLISTER, L.P. et HADEK, R. - Transmission electron microscopy and stereoultrastructure of the T system in frog skeletal muscle.
1970, J.Ultrastructure Res., t. 33, pp 360-368.

Mac PHERSON, L. et WILKIE, D.R. - The duration of the active state in a muscle twitch.
1954, J.Physiol., (London), t. 124, pp 292-299.

MANDRINO, M. - Action du tampon Tris sur les propriétés électriques de la membrane de la fibre musculaire striée de Grenouille.
1969, J.Physiol., (Paris), t. 61, pp 346-347.

MARECHAL; G. - Les sources d'énergie immédiate de la contraction musculaire.
1972, J.Physiol., (Paris), t. 65, p 5-50A.

MARTONOSI. A. et FERETOS, R. - Sarcoplasmic reticulum. I. The uptake of Ca^{++} by sarcoplasmic reticulum fragment.
1964, J.Biol.Chem., t. 239, pp 648-658.

MARTONOSI, A. et FERETOS, R. - Sarcoplasmic reticulum. II. Correlation between adenosine triphosphatase activity and Ca^{++} uptake.
1964, J.Biol.Chem., t. 239, pp 659-668.

MASHIMA, H., AKAZAWA, K., KUSHIMA, H. et FUJII, K. - The force load velocity relation and the viscous-like force in the frog skeletal muscle.
1972, Jap.J.Physiol., t. 22, pp 103-120.

MASHIMA, H. et NAKAYAMA, Y. - On the critical membrane potential for the minimum contracture of frog sartorius muscle fibers.
1967, J.Physiol.Soc.Jap., t. 29, pp 264-265.

MASHIMA, H. et WASHIO, H. - The effect of Zn on the electrical properties of membrane and the twitch tension in frog muscle.
1964, Jap.J.Physiol., t. 14, pp 538-550.

MATSUSHIMA,T., FUJINO, M. et NAGAI, T. - Effects of anomalous anions on caffeine contracture.
1962, Jap.J.Physiol. t. 12, pp 106-112.

MOMMAERTS, W.F.H.M. - Energetics of muscular contraction.
1969, Physiol.Rev., t. 49, pp 427-508.

MURPHY,R.A. et HASSELBACH, W. - Calcium ion dependent myofibrillar adenosine triphosphatase activity correlated with the contractile response. (Temperature induced loss of Ca ion sensitivity).
1968, J.Biol.Chem., t. 243, pp 5656-5662.

NOVOTNY, I. et VISKOČIL, F. - Possible role of Ca ions in the resting metabolism of frog sartorius muscle during potassium depolarization.
1966, J.Cell.Physiol., pp 159-168.

PAGE, S. - The organization of the sarcoplasmic reticulum in frog muscle.
1964, J.Physiol., (London), t. 175, pp 10-11P.

PAUL, D.H. - The effects of calcium and magnesium on mammalian muscle fibres.
1960, J.Physiol.,(London), t. 151, pp 566-577.

PODOLSKY, R.J. et TEICHHOLZ, L.E. - The relation between calcium and contration kinetics in skinned muscle fibers.
1970, J.Physiol., (London), t. 211, pp 19-35.

PORTZELL, H., CALDWELL, P.C. et RUEGG, J.C. - The dependance of contraction and relaxation of crab muscles fibers from the crab Maia squinado on the internal concentration of free calcium ions.
1964, Biophys.Biochim.Acta, t. 79, pp 581-591.

PORTZELL, H., ZAORALEK, P. et GAUDIN, J. - The activation by Ca^{++} of the ATPase of extracted muscle fibers with variation of ionic strength, pH and concentration of Mg ATP.
1962, Biophys.Biochim.Acta, t. 189, pp 440-448.

PRZYBYSLAWSKI, J., LAXENAIRE, R. et POULAILLER, C. - Renforcement de la secousse du muscle strié de Grenouille sous l'action des milieux acides.
1967, J.Physiol., (Paris), t. 59, p 477.

PRZYBYSLAWSKI, J. et REISS, G. - Expériences d'étirement rapide sur des lambeaux de muscle lombrical et diaphragme de Rat : possibilité d'une activation mécanique partielle pendant la secousse du muscle de Mammifère.
1971, J.Physiol., (Paris), t. 63, p 270.

PRZYBYSLAWSKI, J., REISS, G. et DANET, R.M. - Action de quelques cations divalents sur l'activité contractile et électrique du diaphragme isolé de Rat.
1968, J.Physiol., (Paris), t. 60, p524.

REISS, G. - Application de la méthode d'étirement rapide à l'étude du renforcement de la secousse du diaphragme du Rat.
1973, J.Physiol., (Paris), sous presse.

REISS, G. et PRZYBYSLAWSKI, J. - Etude comparée de l'action de quelques cations divalents sur les muscles diaphragme et lombrical de Rat.
1969, J.Physiol., (Paris), t. 61, p 384.

REISS, G. et PRZYBYSLAWSKI, J. - Activation mécanique maximale lors de la dépolarisation membranaire provoquée par l'ion K^+ chez le muscle strié du Rat.
1970, C.R.Soc.Biol., t. 164, pp 733-736.

REISS, G., PRZYBYSLAWSKI, J. et CHEVAL, J. - Action renforçatrice de la secousse et effets dépresseurs de l'ion zinc sur les fibres du diaphragme isolé de Rat.
1971, C.R.Soc.Biol., t. 165, pp 465-473.

RITCHIE, J.M. - The effect of nitrate on the active state of muscle.
1954, J.Physiol., (London), t. 126, pp 155-168.

ROTHSTEIN, A. - Membrane phenomena.
1968, Ann.Rev.Physiol., t. 30, pp 15-72.

RUBIO, R. et SPERELAKIS, N. - Penetration of horseradish peroxydase into the terminal cisternae of frog skeletal muscle fibers and blockade of caffeine contracture by Ca^{++} depletion.
1972, Zertschrift Zellforsch.Mikrosk.Anat., t. 124, pp 57-71.

RUEGG, J.C., STEIGER, G.J. et SCHADLER, M. - Mechanical activation of the contractile system in skeletal muscle.
1970, Pflugers Arch., t. 319, pp 139-145.

SAKAI, T., GEFFNER, E.S. et SANDOW, A. - Caffeine contracture in muscle with desrupted transverse tubules.
1970, Amer.J.Physiol., t. 220, pp 712-717.

SANDOW, A. - Excitation contraction coupling in muscular response.
1952, Yale J.Biol.Med., t. 25, p 176.

SANDOW, A. - Potentiation of muscular contraction.
1964, Arch.Phys.Med

SANDOW, A. - Excitation contraction coupling in skeletal muscle.
1965, Pharm.Rev., t. 17, pp 265-320.

SANDOW, A. - Skeletal muscle.
1970, Ann.Rev.Physiol., t. 32, pp 87-137.

SANDOW, A. et ISAACSON, A. - Topochemical factors in potentiation of contraction by heary metal cations.
1966, J.Gen.Physiol., t. 49, pp 937-961.

SANDOW, A., TAYLOR, S.R., ISAACSON, A. et SEGUIN, J.J. - Electromechanical coupling in potentiation of muscular contraction.
1963, Science, t. 143, p 199.

SANDOW, A., TAYLOR, S.T. et PREISER,H. - Role of the action potential in ex excitation contraction coupling.
1965, Fed.Proc., t. 24, pp 1116-1123.

SMITH,D.S. - The organization and function of the sarcoplasmic reticulum and T system of muscle cells.
1966, Prog.Biophys.Mol.Biol., t. 16, pp 109-142.

SRETER, F.A. et WOO, G. - Cell water, sodium and potassium in red and white mammalian muscles.
1968, Amer.J.Physiol., t. 205, pp 1290-1294.

SEIDEL, J.C. - The effect of monovalent and divalent cations on the ATPase activity of myosin.
1969, Biochem.Biophys.Acta, t. 189, pp 162-170.

SRETER, F.A - Temperature, pH and seasonal dependence of Ca uptake and ATPase activity of white and red muscle microsomes.
1969, Arch.Biochem.Biophys., t. 134, pp 25-33.

TARDIEU, C., TARDIEU, G., GAGNARD, L., TABARY, C. et PFEIFFER, J. - Le muscle strié est-il générateur de force ou de raideur? I. Diagramme force-longueur du tibial antérieur et soléaire chez le Chat. Etirement forcé.
1970, J.Physiol., (Paris), t. 62, pp 327-344.

CASPI, P. POULIQUEN, R. et RICHALET,J. - Le muscle strié est-il un générateur de force ou de raideur? II. Etirements forcés : modèle mathématique.
1970, J.Physiol., (Paris), t. 62, pp 345-359.

TAYLOR, C.P.S. - Isometric muscle contraction and the active stete : an analog computer study.
1969, Biophys.J., t. 9, pp 759-780.

TAYLOR, S.R., PREISER, H. et SANDOW, A. - Mechanical threshold as a factor in excitation contraction coupling.
1969, J.Gen.Physiol., t. 54, pp 352-368.

VAN DER KLOOT, W.G. - Potassium stimulated respiration and intracellular calcium release in frog skeletal muscle.
1967, J.Physiol., (London), t. 191, pp 141-165.

VAN DER KLOOT, W.G. - The steps between depolarization and the increase in the respiration of frog skeletal muscle.
1969, J.Physiol., (London), t. 204, pp 551-559.

VOS, E.C. et FRANK, G.B. - Events occuring in the region of the threshold for potassium induced contractures of frog skeletal muscle. Changes in elasticity and oxygen consumption.
1971, Can.J.Physiol.Pharmacol., t. 50, pp 179-187.

WATANABE, S. - Relaxing effect of EDTA on glycerol treated muscle fibers.
1955, Arch.Biochem.Biophys., t. 54, pp 559-562.

WEBER, A.- Regulatory mechanism of the calcium transport system of fragmented rabbit sarcoplasmic reticulum. I. The effect of accumulated calcium on transport and adenosine triphosphate hydrolysis.
1971, J.Gen.Physiol., t. 57, pp 50-63.

WEBER, A. - Regulatory mechanism of the calcium transport system of fragmente rabbit sarcoplasmic reticulum. II. Inhibition of outflux in calcium free media.
1971, J.Gen.Physiol., t. 57, pp 64-71.

WEBER, A., HERZ, R. et REISS, I. - On the mechanism of the relaxing effect of fragmented sarcoplasmic reticulum.
1963, J.Gen.Physiol., t. 46, pp 679-702.

WILANDER, B. - Active state duration of rat gastrocnemius muscle.
1966 Acta Physiol.Scand., t. 68, pp 1-17.

WILKIE, D.R. - Measurement of the series elastic component at various times during a single muscle twitch.
1956, J.Physiol., (London), t. 134, pp 527-530.

WILKIE, D.R. - Muscle.
1966, Ann.Rev.Physiol., t. 28, pp 17-38.

WINEGRAD, S. - The intracellular site of calcium activation of contraction in frog skeletal muscle.
1970, J.Gen.Physiol., t. 55, pp 77-88.

YELLIN, H. - A histochemical study of muscle spindles and their relationship to extrafusal fiber types in the rat.
1969, Amer.J.Anat., t. 125, pp